



Središnja medicinska knjižnica

Zemba, Mladen (2008) *Učinak pentadekapeptida BPC 157 na senzorno-motorni oporavak štakora nakon primjene intravenskih anestetika [The antagonistic effect(s) of pentadecapeptide BPC 157 in general anaesthesia in rats]*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/566>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

MLADEN ZEMBA

**Učinak pentadekapeptida BPC 157 na senzorno-
motorni oporavak štakora nakon primjene
intravenskih anestetika**

DOKTORSKA DISERTACIJA

ZAGREB, srpnja 2008.

Sveučilište u Zagrebu

Klinika za farmakologiju Medicinskog fakulteta

Voditelj rada

Prof. dr. sc. Predrag Sikirić, dr. med.

Zahvala

Doktorat znanosti predstavlja završetak jedne formalne izobrazbe. To je ujedno i trenutak da se sjetim svih ljudi koji su mi pomogli da sam do tog kraja i stigao. U roditeljskom domu osjetio sam radost zajedničkog života i naučio vrijednosti kojima u životu valja stremiti. Stoga prvo moram zahvaliti svojim roditeljima. Majci, koja se brinula da sve u obitelji bude na svome mjestu, te ocu koji me uputio intelektualnim vrijednostima života. Mojim učiteljima i profesorima u Banja Luci, Tuzli i Sarajevu zahvaljujem na izobrazbi i ustrojavanju na putu u život.

Profesorima Medicinskog fakulteta u Sarajevu zahvaljujem što su me uveli u proučavanje tajni ljudskog organizma.

Zahvaljujem prim. dr. Josipu Jeliću, te mojoj profesoricu prof. dr. sci. Maši Formanek koji su me učili temeljima anesteziološke prakse.

Mome mentoru, prof. dr. sci. Predragu Sikiriću, zahvaljujem u prvom redu na dubokom osjećaju prijateljstva i datoj mi slobodi pri izradi rada. Iz osjećaja prijateljstva i topline okružja, razvila se ideja, tema, te sam rad i konačno rezultati.

Gospodinu doc. dr. sci. Lajos Szivovici dugujem zahvalnost za obradu podataka i pomoć u prikazu rezultata rada. Zahvaljujem gospođi profesoricu Vesni Jelić i Jasni Zetović iz INDOK jedinice Opće bolnice "Sv. Duh" na pripremljenoj literaturi i lekturi teksta.

Supruzi Jani, te kćerkama Andrei i Mihaeli dugujem zahvalnost za strpljenje što su me podnosili dok sam bio zaokupljen ovim poslom i što sam tako često "izbivao" od zajedničkog druženja i obveza.

SADRŽAJ

1. Uvod	1
1.1. Svrha ispitivanja antagonizma opće anestezije	2
1.2. Farmakološki antagonizam opće anestezije	3
1.3. BPC 157 želučani pentadekapeptid	5
1.3.1. Peptidi	5
1.3.2. BPC 157 želučani pentadekapeptid	7
2. Ciljevi i svrha istraživanja	13
3. Metode rada	16
3.1. Vrsta istraživanja	17
3.2. Pokusi	17
3.2.1. Pokusne životinje	17
3.2.2. Lijekovi	17
3.2.3. Grupe pokusa	18
3.3. Ocjena ponašanja eksperimentalnih životinja	19
3.3.1. Određivanje potencije anestetika	19
3.3.2. Određivanje anestetima slične potencije	20
3.3.3. Ocjena reakcije na vanjski podražaj	21
3.3.4. Mjerenje opće aktivnosti	22
3.3.5. Određivanje kataleptičke potencije	23
3.4. Obrada podataka	24
4. Rezultati	25
4.1. Anestetici i spojevi s učinkom sličnim anestheticima	27
4.1.1. Diazepam	27
4.1.1.1. Određivanje anesteziji slične potencije	27
4.1.1.2. Odgovor štakora na vanjski podražaj	30
4.1.1.3. Aktivnost štakora u zatvorenom prostoru	31
4.1.1.4. Aktivnost štakora u slobodnom prostoru	32
4.1.2. Profol	33
4.1.2.1. Određivanje anestetске potencije	33

4.1.2.2. Odgovor štakora na vanjski podražaj	35
4.1.2.3. Aktivnost štakora u zatvorenom prostoru	37
4.1.2.4. Aktivnost štakora u slobodnom prostoru	39
4.1.3. Tiopental	41
4.1.3.1. Određivanje anestetske potencije	41
4.1.3.2. Odgovor štakora na vanjski podražaj	44
4.1.3.3. Aktivnost štakora u zatvorenom prostoru	46
4.1.3.4. Aktivnost štakora u slobodnom prostoru	48
4.1.4. Ketamin	50
4.1.4.1. Određivanje anestetske potencije	50
4.1.4.2. Odgovor štakora na vanjski podražaj	52
4.1.4.3. Aktivnost štakora u zatvorenom prostoru	55
4.1.4.4. Aktivnost štakora u slobodnom prostoru	57
4.2. Anestetici s učinkom katalepsije	59
4.2.1. Fentanyl	59
4.2.1.1. Određivanje kataleptičke potencije	59
4.2.2. Dehidrobenzperidol (drperidol)	62
4.2.3. Talamonal	65
4.3. Pregled učinaka pentadekapeptida BPC 157 na vrijeme oporavka štakora ..	67
5. Rasprava	68
5.1. Primarni zaključci rezultata	69
5.2. NO/cGMP sustav prijenosa signala: središnja točka djelovanja anestetika? ..	84
5.3. Mogući mehanizam djelovanja pentadekapeptida BPC 157 - opća uloga u ranj senzornoj obradi	89
5.4. Uloga efektivnih puteva NO u normalnom motornom ponašanju	93
6. Zaključci	98
7. Sažetak	101
8. Summary	107
9. Literatura	112
10. Životopis	130

POPIS KRATICA

SŽS	središnji živčani sustav
TRH	tireotropin oslobađajući hormon
GABA	gama-amino maslačna kiselina
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	dušikov monoksid
L-NAME	N(G)-nitro-L-arginin metilester
NOS	sintetaza dušičnog monoksida
NADPH	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
EDRF	endothelium-derived relaxing factor, relaksirajući čimbenik porijeklom iz endotela
AMP-ADP-ATP	adenozin monofosfat-adenozin difosfat- adenzin trifosfat
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,2,6-tetrahidropiridin
5-HT	5- hidroksitriptamin, serotonin
GRU, RU	gubitak refleksa uspravljanja, refleks uspravljanja
POA	prosječna ocjena anestezije
ED ₅₀	učinkovita doza lijeka koja izaziva terapijski odgovor u 50 % štakora
DA	dopamin
NAc	akumbalna jezgra
VTa	ventralno talamičko područje
NA	noradrenalin
SNc	kompaktna crna tvar
NO/cGMP sustav	endogeni put dušikovog monoksida/cikličkog gvanozin monofosfata
MAK	minimalna alveolarna koncentracija
cGMP	ciklički gvanozin monofosfat
7-NI	7-nitroindazol
GW	global workspace, globalna mreža
SNr	mrežasta crna tvar
SC	superior colliculus, gornji kolikul

Ih	kationska struja aktivirana hiperpolarizacijom
NOS / NADPH-d	sintetaza dušičnog monoksida / nikotinamid adenin dinukleotid fosfat-diaforaza
MSN	srednje veliki trnasti neuron
GC, sGC	gvanilil ciklaza, topiva gvanilil ciklaza
GLU	glutamat
PFC	prefrontalna kora
PKG	protein kinaza ovisna o cGMP ili protein kinaza G
DARPP-32	fosfoprotein 32 kDa reguliran dopaminom- i cikličkim AMP

1. UVOD

1.1. Svrha ispitivanja antagonizma opće anestezije

Mehanizam opće anestezije nije još dovoljno razumljiv (1, 2, 3). Problem kod istraživanja nastanka anestezije, nedostatak je specifičnih antagonista opće anestezije (4). Opijati mogu biti antagonizirani naloksonom, benzodiazepini flumazenilom, a nedepolarizirajući mišićni relaksansi neostigminom ili edrofonijem. Na taj način, teoretski bi bilo moguće antagonizirati i. v. anesteziju induciranu kombinacijom opijata, benzodiazepina i mišićnih relaksansa davanjem kombinacije antagonista za svaku tvar. Međutim, iskustvo je pokazalo da rutinska primjena naloksona nakon pretežno na opioidima bazirane anestezije, često rezultira s hipertenzijom, tahikardijom, te akutnom i jakim boli (5). Benzodiazepinski antagonist flumazenil općenito se podnosi dobro. Međutim, ukoliko se bolesnik probudi prebrzo, mogu se pojaviti simptomi sa strane SŽS-a. Ekscesivna ili brzo injicirana doza flumazenila može inducirati simptome ispuštanja u bolesnika koji su na kroničnom tretmanu benzodiazepinima. Također, antagonisti za inhalacijske anestetike još nisu pronađeni, što ne znači da ti anestetici ne djeluju na specifične receptore. Prije se radi o tome, da inhalacijski anestetici mogu jednostavno djelovati na više receptora, koji se razlikuju po farmakodinamskim svojstvima i zahtijevaju više različitih antagonista koji još nisu poznati.

1.2. Farmakološki antagonizam opće anestezije

Trenutno ne postoje farmakološki spojevi koji bi antagonizirali opće anestetike, s izuzetkom fizostigmina (6). Usporedba različitih anestetika pokazuje da svaki spoj ima vlastiti spektar molekularnih učinaka te stoga pokazuje specifičan, učinak sličan otisku prsta na različitim razinama aktivnosti neurona. To može objasniti zašto nije poznat spoj koji specifično antagonizira opću anesteziju. Opća anestezija je multidimenzionalni fenomen. Gubitak svijesti, amnezija, analgezija, gubitak senzorne obrade i depresija spinalnih motornih refleksa njene su važne komponente. Donedavno nije bilo poznato da različiti molekularni mehanizmi mogu biti u podlozi tih različitih pojava. Postoji mali broj istraživanja o antagonizmu opće anestezije s različitim lijekovima, pri čemu se koristio samo jedan ili dva anestetika (npr., 4-aminopiridin, za etanol i ketamin (7, 8), tireotropin oslobađajući hormon (TRH), za etanol i pentobarbital (9, 10, 11), antikolinesterasni spojevi, za pentobarbital i ketamin (12), agonist kalcijevih kanala, Bay K 8644 za etanol, pentobarbital i argon (13), dok se u sustavnom istraživanju (4) koje se usmjerilo na učinke konvulziva i TRH, koristio ketamin, pentobarbital i propofol uz etanol. Također se u praksi zapazilo, da aminofilin primjenjen na kraju zahvata skraćuje oporavak opće anestezije i poboljšava kvalitetu oporavka (14, 15, 16, 17, 18). Dokazano je da aminofilin smanjuje dubinu i trajanje sedacije izazvane barbituratima (19), diazepamom (20, 21, 22), midazolamom (23) i propofolom (24). Jedini reproducibilni i čvrst primjer demonstracije antagonizma opće anestezije aplikacija je visokog tlaka (25). Povećavanje tlaka ambijenta na približno 80-100 atmosfera poništava anestetske učinke različitih tipova spojeva, uključujući inhalacijske

anestetike, barbiturate i steroide (26, 27, 28). Mehanizam promjena izazvanih tlakom nije u potpunosti razumljiv. Izgleda da visoki tlak ne smanjuje učinke GABA na GABA_A receptorima (29) ali je nađeno da su učinci NMDA na hipokampalnim stanicama povećani (30). Međutim, kada se ima na umu da je pravac koncentracija-odgovor za opće anestetike vrlo strm, relativno male promjene u anestetskoj potenciji su sve što je potrebno da dođe do tog dramatičnog obrata. Pitanje je da li tlak izaziva pravi farmakološki antagonizam, izravnim poništavanjem molekularnih učinaka anestetika, ili je taj učinak fiziološki, s tlakom koji dovodi do povećanja opće razine ekscitabilnosti, što dovodi do smanjenja anestetske potencije. I zaista, dobro je poznato da tlak, u odsustvu anestetika, dovodi do povećanja podražljivosti, te da se opće povećanje tonusa podražljivosti može suprotstaviti depresivnom učinku anestetika (31).

1.3. BPC 157 želučani pentadekapeptid

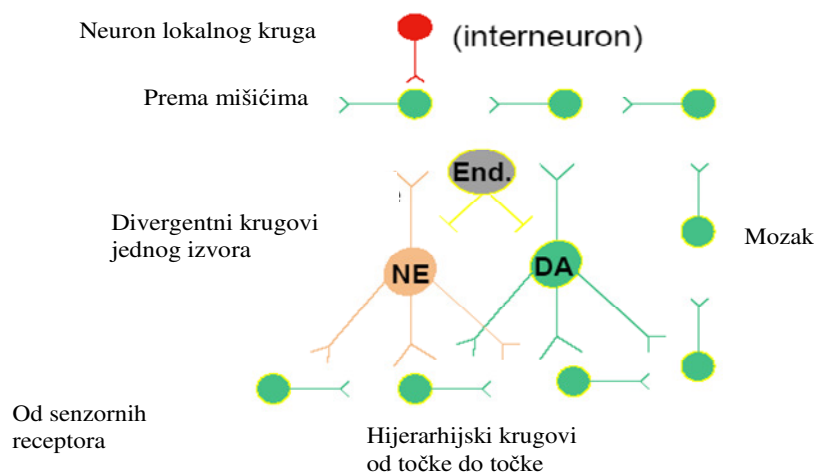
1.3.1. Peptidi

Zadnjih desetljeća dokazano je da neuroni osim GABA-e, glutamata, biogenih amina i katekolamina, proizvode i luče peptide. Ti peptidi zovu se neuropeptidi i predstavljaju heterogenu skupinu molekula s različitim brojem aminokiselina (od 2 do 40). Mnogobrojni neuropeptidi imaju svoja ciljna mjesta kako u mozgu, tako i u gastrointestinalnom traktu, te ne djeluju kao klasični neurotransmiteri, već kao modulatori ili kotransmiteri (32). Oni imaju “nadzornu ulogu” u mozgu omogućavajući da se složena živčana aktivnost odvija putem procesa neuromodulacije, a ne preko izravne neurotransmisije. O međudjelovanju mozga i viscera govore podaci da se 90% neurotransmitera serotonina nalazi u enterokromatofinim stanicama gastrointestinalnog sustava, te da su tvari s djelovanjem na dopamin i acetilkolin uključene u želučanu i crijevnu citoprotekciju.

Potrebno je istaknuti značajan mehanizam regulatornog djelovanja neuropeptida. Neuropeptidi mogu promijeniti osjetljivost živčanih stanica na utjecaj medijatora moduliranjem procesa sinaptičke transmisije u presinaptičkim i postsinaptičkim područjima sinapsi.

Na slici 1. prikazan je obrazac živčanih putova, njihovi hijerarhijski i lokalni krugovi. Tu su vrlo važni putovi iz malog broja staničnih tijela, ali s jako divergentnim vezama, npr. monoaminski i peptidni, preko kojih se postiže integrativna aktivnost više diferentnih sustava. Pri tome monoamini predstavljaju

«šefove odjela», a peptidi imaju ulogu «dekana» s još širim odgovornostima. Modulatorni neurotransmiteri uzevši strogo ne ekscitiraju ili inhibiraju neurone, nego



SLIKA 1.
Obrazac živčanih putova

umjesto toga modificiraju (moduliraju) podražljivost neurona. Modulatorni neurotransmiteri mogu izazvati dugotrajno povećanje ili smanjenje broja otvorenih K^+ kanala, a s porastom broja otvorenih K^+ kanala, neuroni su lakše podražljivi glutamatom. Možda to objašnjava ekscitaciju u određenim područjima moždanih hemisfera kada se oslobađa jedan od neuropeptida.

Ispitivanje učinaka inhibitora ili aktivatora „specifičnih“ receptora na anestetsku potenciju može biti od pomoći, naročito u identifikaciji ciljeva koji nisu relevantni. Npr., ako bi pretpostavljeni cilj mogao biti značajno inhibiran bez djelovanja na anestetsku potenciju, tada vjerojatno ne bi bio relevantan. Problem bi nastao kada bi došlo do učinka na anestetsku potenciju. Tu bi bilo teško razlučiti

između promjene u potenciji koje se zbiva zato što je zahvaćen relevantni cilj i promjene u anestetskoj potenciji koja se događa zbog učinka na paralelnom putu, koji nema značaja u djelovanju ispitivanog anestetika (31).

Farmakološki učinci anestetika nisu selektivni s obzirom da mogu djelovati na organizaciju membrane, djelovati na funkciju enzima koji su vezani u staničnoj membrani, enzime i proteine uključene u sprovođenje signala, ionske kanale, nosače proteina i ekspresiju gena. Suprotno, njihovi učinci su specifični utoliko, što oni stupaju u interakciju sa zasebnim mjestima na svakom pojedinom proteinu, a bitni su za funkciju proteina, odnosno funkcioniranje stanice. Tako, potencijalni antagonist treba praktički raspolagati sa svojstvenim mehanizmom djelovanja koji uključuje višestruka subcelularna mjesta djelovanja u SŽS, utičući tako na funkciju većine, ukoliko ne i svih živčanih sustava na molekularnoj, staničnoj i razini sustava.

1.3.2. BPC 157 želučani pentadekapeptid

Misli se da BPC, koji je stvoren konstitutivno u želučanoj sluznici (tijelo) i postoji u želučanom soku (33-41), štiti želudac od ozljeda. Istraživanja su dokazala da ovaj pentadekapeptid ima snažnu protu-upalnu aktivnost u akutnom i kroničnom modelu upale (33, 41), smanjuje otpuštanje medijatora upale (npr., mieloperoksidaze, leukotrijena B₄, tromboksana B₂) *in vitro* i *in vivo* (42-44), značajno smanjuje razne eksperimentalne lezije u drugim organima (npr., jetri (45), gušterači (38), srcu (34, 45, 46) i potiče cijeljenje rana i fraktura u štakora (34, 37). Ukazano je na otpuštanje ovog pentadekapeptida iz somatosenzornih neurona, na osnovu eksperimenata s neurotoksinom kapsaicinom (33) i ispitivanjem lezija nosa (47) i crijeva (48). Kako su neuropeptidi koji potiču iz aferentnih senzornih neurona u blizini mikrožilja

uključeni u regulaciju otpuštanja endotelnih medijatora (49), istraživalo se da li učinci pentadekapeptida BPC 157 mogu biti rezultat interakcije s dušikovim monoksidom (NO). Jasno je pokazano da BPC 157 može interferirati s učinkom NO spojeva na specifičan način u održanju integriteta želučane sluznice i održanju krvnog tlaka. U pokusima u kojima se koristio supernatant homogenata sluznice želuca štakora, BPC 157 je imao učinak na tvorbu NO koji je bio mnogo izraženiji i/ili različit od učinka L-arginina. Slični rezultati potvrđeni su u modelu na pilićima (46). Naime, sindrom plućne hipertenzije ili ascites u pilića bio je induciran kroničnom primjenom L-NAME, pri čemu je L-arginin imao poguban učinak posebno za srce. Interesantno, pentadekapeptid BPC 157 je mogao značajno prevenirati pojavu lezija u različitim organima (46). Otkako je pokazano, u *in vivo* i *in vitro* pokusima, da pentadekapeptid BPC 157 može nadvladati učinak L-NAME, izgleda da je moguća posebna interakcija s NO sustavom. Pretpostavljajući da lijekovi kao L-NAME inhibiraju NO sintetazu (NOS) takmičenjem s L-argininom (za pregled, vidi 48), može se razmišljati o sličnom takmičenju s pentadekapeptidom BPC 157. Rezultati *in vitro* eksperimenata u skladu su s ovom predodžbom. Tako je stvaranje NO bilo smanjeno, kada su se kombinirali L-arginin i pentadekapeptid BPC 157, mada su oba injicirala sintezu NO, kada su se davala odvojeno. Čini se stoga, da bi ovo takmičenje između pentadekapeptida i L-arginina bilo također moguće *in vivo*, naročito kada je raspoloživost NOS ograničena npr, kada je već značajno inhibirana s L-NAME. To može biti objašnjeno dodatnom inhibicijom aktivnosti BPC 157 kada se L-arginin dodao L-NAME, kako je viđeno u pokusima s lezijama želuca i pokusima s krvnim tlakom. Interesantno, u pokusima s krvnim tlakom, primjena BPC 157 značajno je prevenirala pad tlaka izazvan L-argininom.

Kako u *in vitro* pokusima, BPC 157 inducirano stvaranje NO nije bilo inhibirano dodatkom L-NAME, mada je L-NAME davana u dozi pet ili deset puta većoj nego što je potrebno za inhibiciju učinka L-arginina, vjerojatnije je da BPC 157 ima mnogo značajniji i/ili različit učinak na NO nego L-arginin. Ova pretpostavka podržana je s usporedivim antiulcerogenim učinkom ovih spojeva, L-arginina i BPC 157. Kada je bio provociran s istom dozom L-NAME, učinak L-arginina bio je potpuno uklonjen kod alkoholnih ozljeda štakora, dok je učinak BPC 157 bio samo oslabljen. Teoretski, mogućnost da se BPC 157, koji se stvara konstitutivno u sluznici želuca i koji postoji u želučanom soku (33-39, 46-47) takmiči učinkovito s oba analoga L-arginina (npr., L-NAME) i L-argininom može imati fiziološki značaj. Dajući značenje NOS i osnovnom stvaranju NO u sluznici želuca, koje je veće nego što je viđeno u drugim tkivima (npr., pluća, jetra) (50), nije sasvim neočekivano da želučani pentadekapeptid BPC 157 koji ima izrazitu stabilnost u želučanom soku (34, 44) i bez sličnosti s poznatim peptidima (51), može ispoljiti takve učinke. Pošto je o kalciju i NADPH-ovisna NOS prisutna u tkivu želuca u mikrovaskularnom endotelu i vjerojatno u drugim stanicama mukoze (47), potrebno je odrediti točno mjesto interakcije pentadekapeptida. Na sličan način na osnovu bliske sličnosti sinteze NO u želučanom i drugim tkivima (npr., krvožilju, plućima i tkivu jetre) (47), ovaj pentadekapeptid bi vjerojatno mogao imati sličan učinak također u drugim organima. To bi moglo osigurati osnovu za multiple učinke BPC 157 (33-40, 46-47) u dodatku na predloženu protektivnu ulogu ovog pentadekapeptida u želucu i drugim organima. S aspekta dvojnog učinka lijekova koji djeluju na sintezu NO (45) i važne signalne uloge NO u integritetu sluznice želuca i održavanju krvnog tlaka (49, 50), moguća modulatorna uloga ovog pentadekapeptida mogla bi biti pogodna.

Prepoznato je, da je zaštita endotela bitna u prevenciji alkoholom induciranih lezija želuca, uključena također kao bitan čimbenik u široku organoprotektivnu aktivnost (52). Kao što je spomenuto, endotel krvnih žila u stanju je modulirati tonus krvnih žila, dijelom stvaranjem tvari poznate kao relaksirajući čimbenik porijeklom iz endotela (EDRF), koji je identificiran kao NO (49). Pomoću poznatog Szabo-vog protokola etanolom induciranih lezija želuca pokazano je da pentadekapeptid BPC 157 štiti endotel (52, 34, 35), a nedavno je nadalje naglašena njegova posebna citoprotektivna uloga (39). Veoma je važna činjenica, da antiulkusnu aktivnost BPC 157 prati oporavak AMP-ADP-ATP sustava u sluznici želuca (53). Slično, BPC 157 ima važne učinke čak izvan gastrointestinalnog sustava (33-35, 37-38, 42-46, 54, 55), uključujući zaštitu srca, nakon hipoksične i reoksigenacijske lezije u izoliranom srcu zamorca (34, 45). Kao i mnogi drugi crijevni peptidi, BPC 157 je prisutan u različitim organima (34), a njegovu moguću posebnu ulogu u interakciji s NO sustavom porijeklom iz endotela treba i dalje istraživati. Zanimljivo, za razliku od L-arginina i njegovih analoga (49), BPC 157 sam, apliciran čak u višim dozama (npr., mg/kg) nije mogao utjecati na osnovne vrijednosti tlaka (34). Međutim, pokazano je da je nakon primjene ovog pentadekapeptida, inače fatalni pad krvnog tlaka u štakora s teškim hemoragičkim šokom mogao biti oporavljen prema normalnim vrijednostima i preživljavanje značajno povećano (34). Također je vjerojatno da BPC 157 može inhibirati učinak kalcijeve ionofore A23187, za koju je poznato da stimulira otpuštanje NO (49). NO razaraju superoksidni anioni, a inaktivacijom superoksidnih aniona štiti se i produžuje djelovanje NO (npr., 50). Pokazano je također da pentadekapeptid BPC 157 ima svojstva čistaća i osigurava zaštitu od lezija izazvanih slobodnim radikalima (34, 36). Konačno, izgleda da je aktivnost

NOS djelomično uključena u gastričnu citoprotekciju (55), a blokada oba, kapsaicin-osjetljivih aferentnih neurona i sinteze NO je potrebna da izazove gastrointestinalne lezije (56).

Nedavno je pokazano, da stabilni gastrički pentadekapeptid BPC 157 (GEPPPGKPADDAGLV, M.W.1419) (o njegovom mogućem fiziološkom značenju vidi pregledne članke npr., (57-59) antagonizira učinke etanola (60, 61). BPC 157 se snažno suprotstavlja akutnoj intoksikaciji etanolom (npr., anesteziji, hipotermiji, povećanju koncentracije etanola u krvi, 25% smrtnom ishodu) ukoliko se primjenjuje prije ili nakon etanola, a kada se primjenjuje nakon naglog prekida davanja etanola, ublažava simptome ispuštanja nakon kroničnog pijenja etanola (60, 61). BPC 157 također antagonizira nastanak akutnih i kroničnih lezija želuca i jetre (62). Osim antagonizirajućeg učinka kod etanolom induciranih poremećaja, koji su barem dijelom ovisni o NO (63), on inducira oslobađanje NO u supernatantu sluznice želuca štakora (63), što je vjerojatno važno i za druga tkiva (50) jer se suprotstavlja pretjeranoj izraženosti endotelina-1 (64). U podršci mogućem antagonizmu opće anestezije, pokazano je da se pentadekapeptid BPC 157, može suprotstaviti raznim središnjim poremećajima. Ovaj pentadekapeptid može stupiti u interakciju s katekolaminergičkim sustavom i posebno središnjim dopaminskim sustavom, što je zapaženo u zaštiti koju ovaj peptid pruža sluznici za vrijeme stresa. (37). Pentadekapeptid BPC 157 uspješno djeluje kod međusobno suprotnih poremećaja nastalih zbog: povećanja otpuštanja kateholamina (dopamina) iz presinaptičkih vezikula (amfetaminska stereotipija, ekscitabilnost) (65), blokade dopaminskih receptora (katalepsiya izazvana antipsihoticima) (66), povećane osjetljivosti dopaminskih receptora (primjena amfetamina nakon prethodne primjene blokatora

dopaminskih receptora haloperidola) (67), potpunog nestanka monoamina (blokada vezikularnog unositelja s rezerpinom) i razaranja dopaminskih neurona (djelovanje neurotoksina MPTP-a) (68). Kada se štakorima primjeni i. p., BPC 157 ima specifičan utjecaj na pojedine regije mozga (npr., sinteza 5-HT značajno raste u strukturi *substantia nigra (compacta i reticulata)* (69) i antagonizira nepokretljivost štakora i serotoninski sindrom (70, 71). Pentadekapeptid BPC 157 pokazuje posebnu anksiolitičku aktivnost u štakora (npr., svjetlo/tama, šok/test skrivanja) (72). Kada se primjenjuje istodobno s diazepamom u kroničnoj primjeni kod miševa, pentadekapeptid BPC 157 izaziva gubitak razvoja tolerancije na diazepam, dok je rezidualno antikonvulzivno djelovanje produženo, a fizička ovisnost/ustezanje odgođena (73). Sve upućuje da bi pentadekapeptid BPC 157 mogao biti peptidni agens koji antagonizira akutne učinke anestetika.

2. CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA

Temeljom navedenog postavlja se pitanje, može li se pentadekapeptidom BPC 157 smanjiti štetno djelovanje nuspojava anestetika, odnosno skratiti i poboljšati senzorno-motorni oporavak štakora nakon njihove primjene? U ovom radu ispitivali su se učinci pentadekapeptida BPC 157, na tijek opće i. v. anestezije kod štakora, kao i brzinu oporavka štakora nakon prestanka anestetskog učinka. Anestetici koji su se ispitivali su diazepam, propofol, ketamin, tiopental, fentanil, droperidol i talamonal. Izabrani su predstavnici različitih skupina anestetika, benzodiazepina, pravih anestetika, analgetika i neuroleptika, koji djeluju unutar različitih sustava, što bi nam moglo pomoći u objašnjenju mehanizma potencijalnih učinaka pentadekapeptida BPC 157.

Motiv ovoga istraživanja leži u činjenici da bi se mogla poboljšati klinička praksa anesteziologa.

Svrha istraživanja utvrditi je učinke pentadekapeptida BPC 157 tijekom opće anestezije s intravenskim anestheticima u štakora, što bi se u kliničkoj praksi potencijalno moglo iskoristiti za brži oporavak pacijenata nakon anestezije.

Da bi se ostvarila svrha istraživanja postavljeni su slijedeći ciljevi istraživanja:

1. Procijeniti učinke pentadekapeptida BPC 157 na opće anestetsko djelovanje diazepama, propofola, tiopentala, ketamina, fentanila, droperidola, i talamonala u štakora.
2. Ispitati učinak pentadekapeptida BPC 157 na brzinu oporavka nakon prestanka djelovanja diazepama, propofola, tiopentala, ketamina, fentanila, droperidola, i talamonala.

Ispunjeni ciljevi istraživanja dopustiti će prikupljanje dovoljne količine činjenica pomoću kojih se može **testirati glavna hipoteza istraživanja:**

1. Pentadekapeptid BPC 157 je farmakološki antagonist ispitivanih anestetika.

Očekujem da će dobiveni rezultati dati odgovore na pitanja o mogućem djelovanju pentadekapeptida BPC 157 na oporavak štakora nakon primjene anestetika i predstavljati znanstveni doprinos.

3. METODE RADA

3.1. Vrsta istraživanja

Istraživanje je provedeno kao prospektivna eksperimentalna pretklinička jednostruko slijepa studija. Osoba koja je ocjenjivala ponašanje životinja nije znala koji je tretman imala životinja. Svi pokusi izvedeni su u skladu s uputama Etičkog povjerenstva za korištenje laboratorijskih životinja (Suglasnost broj: 04-1114-2006).

3.2. Pokusi

3.2.1. Pokusne životinje

U pokusu su se koristile ženke štakora soja Wistar, tjelesne težine od 200-250 g. Životinje su bile uzgoj Zavoda za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, a držane su u kavezima pri sobnoj temperaturi ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) sa 12-satnim svjetlosnim režimom dan-noć. Imale su normalnu prehranu s komercijalnom hranom (Pliva, Zagreb, Hrvatska). Voda i hrana davani su *ad libitum*.

3.2.2. Lijekovi

Ispitivao se učinak pentadekapeptida BPC 157 na djelovanje lijekova korištenih u općoj anesteziji u štakora: diazepama, propofola, tiopentala, ketamina, fentanila, dehidrobenzperidola, i kombinacije fentanila i dehidrobenzperidola (talamonala).

1. Sintetski pentadekapeptid BPC 157 (Diagen, Ljubljana, Slovenija) u fiziološkoj otopini (33-48, 53, 57-74).

(Pentadekapeptid BPC 157 je pretpostavljeni esencijalni fragment organoprotektivnog proteina želučanog soka, BPC (*vidi Patent, primjerice Sikirić i sur, Pharmacologically active substance, the process for its preparation, and its use in the therapy. EP 0432400*), korišten u dosadašnjim istraživanjima pentadekapeptida BPC 157, a sastoji se od petnaest aminokiselina: Gly-Glu-Pro-Pro-Pro-Gly-Lys-Pro-Ala-Asp-Asp-Ala-Gly-Leu-Val, M_t 1,419 Daltona. Dobiven je sintezom kako je opisano (*vidi Patent, primjerice Sikirić i sur., Peptides with organoprotective activity, the process for preparation them, and use in the therapy. EP 0572688*). Peptid čistoće 99 % korišten je u pokusima).
2. Diazepam (Krka, Slovenija),
3. Propofol (Zeneca, Velika Britanija),
4. Tiopental (Pliva, Hrvatska),
5. Ketamin (Parke Davis, Njemačka),
6. Fentanil (Janssen, Danska),
7. Dehidrobenzperidol (Droperidol) (Janssen, Danska)
8. Talamonal (Janssen, Danska)

3.2.3. Grupe pokusa

Sve tvari ili fiziološka otopina davane su u akutnoj primjeni, aplicirane intraperitonealno (i. p.) u volumenu 5 mL/kg. Svaki lijek pripremljen je na dan pokusa. BPC 157 10 µg/kg tjelesne težine aplicirao se prvo i. p. sam.

Pentadekapeptid BPC 157 (10 pg, ili 10 ng ili 10 µg/kg t.t.) ili jednaki volumen fiziološke otopine davani su 5 minuta prije različitih anestetika (/kg t.t.): diazepam (10,0; 15,0; 20,0 mg), propofola (50,0; 75,0; 100,0 mg), tiopental (20,0; 30,0; 40,0 mg), ketamina (50,0; 75,0; 100,0 mg), fentanila (0,2; 0,3; 0,4 mg), dehidrobenzperidola (6,0; 8,0 mg), kombinacije fentanila i dehidrobenzperidola (0,1 mg i 5,0 mg; 0,15 mg i 7,5 mg). Doze anestetika izabrane su tako da dovedu do gubitka refleksa uspravljanja između 0 i 100% štakora, isključujući te krajnje vrijednosti; tri anestetske doze su korištene u konstrukciji svakog pravca doza-odgovor. Vrijeme primjene pentadekapeptida BPC 157 izabrano je tako da se maksimum njegovog djelovanja poklapa s maksimalnim učinkom ispitivanih anestetika. Vrijeme primjene i doze BPC 157 izabrane su iz publiciranih studija, tako da je davan u pretretmanu 5 min prije ispitivanih anestetika, a doze su bile 10 pg/kg, 10 ng/kg i 10 µg/kg. U pokusima se koristilo 6 štakora po skupini, ukupno 912 štakora. Svi štakori su korišteni samo jedanput u pokusu. Štakori su bili ispitivani individualno u kavezu i slobodnom polju.

3.3. Ocjena ponašanja eksperimentalnih životinja

3.3.1. Određivanje potencije anestetika

U odvojenim serijama eksperimenata, na ženkama štakora soja Wistar, prosječne težine 200-250 g, testirao se učinak pentadekapeptida BPC 157 na anestetsku potenciju izazvanu različitim dozama općih intravenskih anestetika. Opća anestetska potencija lijekova ispitivala se koristeći gubitak refleksa uspravljanja

(GRU) kao pokazatelja djelovanja anestetika (indeks anestezije) (4, 13, 74). Nakon i. p. injekcije anestetika, štakori su se nježno okretali na leđa u 5 min intervalima. Ukoliko unutar 10 sekundi nisu postigli položaj na trbuhu, to se smatralo gubitkom refleksa uspravljanja. Određivanje gubitka refleksa uspravljanja provodilo se najviše do 2 sata. Djelovanje anestetika se ocjenjivalo prema ocjenskoj ljestvici: ocjena 0 odgovarala je normalnom refleksu; ocjena 1 je odgovarala odsustvu refleksa (bez uspravljanja unutar 10 sekundi). Prosječna ocjena anestezije (POA) prosjek je ocjena bilježenih svakih 5 minuta nakon injekcije anestetika do oporavka refleksa uspravljanja u svih životinja u skupini do najviše 2 sata. Vrijeme potrebno za povratak normalnog refleksa uspravljanja (prikazano kao ocjena 0) smatralo se vremenom oporavka (min.) Broj štakora koji su izgubili refleks uspravljanja (ocijenjenih 1) od ukupnog broja koji su dobili specifični tretman koristio se za izračunavanje postotka gubitka refleksa uspravljanja. ED_{50} gubitka refleksa uspravljanja, interval povjerenja 95%-ne pouzdanosti i pouzdanost razlika u ED_{50} vrijednostima među grupama određivala se po metodi Litchfield-a i Wilcoxon-a, kao u ranijem istraživanju Dolin-a i suradnika (13).

3.3.2. Određivanje anestetima slične potencije

Anestheticima slična potencija diazepama ispitivala se koristeći gubitak refleksa uspravljanja kao pokazatelja sedativno/hipnotskog učinka. Nakon injekcije, štakori su se nježno okretali na leđa u 5 min intervalima. Ukoliko unutar 10 sekundi nisu postigli položaj na trbuhu, to se smatralo gubitkom refleksa uspravljanja. Određivanje gubitka refleksa uspravljanja provodilo se najviše do 1 sata. Gubitak refleksa uspravljanja se ocjenjivao prema ocjenskoj ljestvici: ocjena 0 značila je

normalan refleks; ocjena 1 je odgovarala odsustvu refleksa (bez uspravljanja unutar 10 sekundi). Prosječna ocjena anesteziji sličnog učinka (POA) prosjek je ocjena bilježenih svakih 5 minuta nakon injekcije diazepama do oporavka refleksa uspravljanja svih životinja u skupini do najviše 1 sata. Vrijeme potrebno za povratak normalnog refleksa uspravljanja (prikazano kao ocjena 0) smatralo se vremenom oporavka (min.) Broj štakora koji su izgubili refleks uspravljanja (ocijenjenih 1) od ukupnog broja koji su dobili specifični tretman koristio se za izračunavanje postotka gubitka refleksa uspravljanja. ED_{50} gubitka refleksa uspravljanja, interval povjerenja 95%-ne pouzdanosti i pouzdanost razlika u ED_{50} vrijednostima među grupama određivala se po metodi Litchfield-a i Wilcoxon-a.

3.3.3. Ocjena reakcije na vanjski podražaj

Učinak anestetika na pokretljivost i somatosenzornu orijentaciju procjenjivao se na zasebnim skupinama štakora prema reakciji na standardiziranu kompresiju repa. Standardizirana kompresija korijena repa štakora izvodila se posebnom pincetom. Svaki štakor se promatrao 5 sekundi, u periodu anestezije i u post-anestezijskom periodu u razmacima od 10 minuta kroz najviše 2 sata. Odgovori su se ocjenjivali korištenjem jednostavnog bodovnog sustava (zbroj 0-4) (75), pri čemu je najmanja ocjena pokazivala najlošije stanje: ocjena 0 – bez reakcije; ocjena 1 – izbjegavanje, ali bez okretanja; ocjena 2 – izbjegavanje, slaba vokalizacija; ocjena 3 – izbjegavanje s okretanjem i slaba vokalizacija; ocjena 4 – okretanje s jakom vokalizacijom.

3.3.4. Mjerenje opće aktivnosti (ponašanje životinja)

Vraćanjem spontane aktivnosti (u vremenskom periodu različitom za razne anestetike) simultano se mjerila opća aktivnost štakora (lokomocija, podizanje i stereotipni pokreti). Motorni i lokomotorni odgovori ocijenjivali su se u kavezu i otvorenom polju korištenjem jednostavnog bodovnog sustava Ellinwood-a i Balster-a (1974) (76). Svaki štakor ispitivao se 20 sekundi u 10 min periodima za vrijeme perioda anestezije i u post-anestetskom periodu i njegovo ponašanje zabilježeno. Za svaki period promatranja svaka se životinja bodovala od 1 – 8. Opis svake ocjenske vrijednosti je dat u tablici 1. Na ovoj ljestvici, 1 = spava; 2 = neaktivan; 3 = aktivan u mjestu; 4 = ataksičan; 5 = normalan, živahan, aktivan; 6 = brzi pokreti; 7 = stereotipno ponašanje; 8 = hiperaktivno ponašanje.

TABLICA 1.

Ocjenska ljestvica za učinke anestetika i BPC 157 na motorno / lokomotorno ponašanje štakora (modifikacija Ellinwood-ove i Balster-ove ocjenske ljestvice (1974))

<i>Bodovi</i>		<i>Definicija</i>
1	Spava	Leži, oči zatvorene
2	Neaktivan	Leži, oči otvorene
3	Aktivnost u mjestu (njegovanje)	Normalno njegovanje ili žvakanje rešetki
4	Ataksičan	Kreće se po kavezu, ali sporo ataksično
5	Normalan, živahan, aktivan	Kreće se po kavezu, njuši, uzdiže se
6	Obrazac brzih pokreta	Žurno kretanje karakterizirano brzom promjenom položaja
7	Stereotipno ponašanje	Npr. brzi rotatorni pokreti
8	Hiperaktivan	Hiperaktivnost, iskakanje, uspinjanje

Modificirana ocjenska ljestvica Ellinwood-a i Balster-a (1974). Svaki štakor se ispitivao 20 sekundi u 10 min intervalima, a njegovo ponašanje je bilo zabilježeno

3.3.5. Određivanje kataleptičke potencije

Vrijeme katalepsije određivalo se nakon i. p. primjene fentanila, droperidola i talamonala. Stanje katalepsije štakora procjenjivano je postavljanjem štakora u položaj uzdizanja nježnim postavljanjem prednjih šapa na ljestvicu (visine 8 cm) po strani kaveza (77, 78). Ukoliko su štakori održali ovaj položaj duže od 20 s, to stanje se računalo u katalepsiju. Za prestanak katalepsije smatralo se vrijeme kada je štakor pomaknuo obje šape sa prečke. Vrijeme za koje je štakor održavao to imobilno stanje bilježilo se kumulativno do 120 min. Štakori nisu pokazali kataleptičku reakciju nakon injekcije fiziološke otopine.

3.4. Obrada podataka

Podaci su nakon prikupljanja transformirani u oblik prikladan za statističku obradu i analizu, tj. složeni su u matricu podataka u kojima redovi predstavljaju entitete (pokusne životinje), a stupci varijable (npr. vrsta anestetika, vrijeme promatranja, aktivnost u kavezu i sl.). Obrada podataka ponajprije se sastojala od deskripcije svih varijabli, po svim promatranim uzorcima, tj. za svaki anestetik posebno po dozama BPC-a. Rezultati deskripcije prikazani su tablično i grafikonima. Testiranje postavljenih hipoteza, glede utjecaja pojedinih doza BPC-a, provedeno je parametrijskim (procjena efektivne doze ED_{50}) odnosno neparametrijskim metodama (χ^2 - testom), ovisno o svojstvima i razdiobama podrazumijevanih varijabli. Za kontinuirane varijable, od kojih sve slijede normalnu razdiobu, razlika uzoraka definiranih dozama BPC-a u odnosu na kontrolni uzorak, testirana je one-way ANOVA testom koji je pratio Student-Newman Keuls' ov post hoc test (79, 80). Rezultati katalepsije izraženi su kao srednja vrijednost \pm SE. Razlike među skupinama smatrane su statistički značajnim ukoliko je $p < 0,05$.

Rezultati su sustavno interpretirani i navedeni u za to prilagođene tablice i prikazani su grafikonima kad god se to pokazalo dovoljno ilustrativnim i svrsishodnim za bolji uvid u strukturu podataka. Obrada podataka izvedena je na osobnom računalu uz pomoć programskih paketa STATISTICA for Windows, Release 5.5 H ('99 Edition)^{*} i SPSS for Windows, Release 6.1^{**}.

^{*} StatSoft, Inc. (1999). STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2217, email: info@statsoft.com, WEB: <http://www.statsoft.com>

^{**} SPSS Inc. (1994). SPSS for Windows [Computer program manual]. SPSS Inc. 444 N. Michigan Avenue, Chicago, Illinois 60611, U.S.A.

4. REZULTATI

Pri određivanju anestetske potencije, pravci doza-odgovor izvedeni su za učinke anestetika svakih 5 minuta nakon primjene sa ili bez BPC 157, dok se štakori nisu probudili. ED_{50} vrijednosti i 95% intervali pouzdanosti izračunati su i uspoređeni po metodi probit analize Wilcoxon i Litchfielda, kao u ranijim ispitivanjima (4, 13). Obrazac rezultata i smjer učinaka BPC 157 bili su isti u različitim vremenskim točkama unutar pojedinog eksperimenta. Radi jasnoće, rezultati svih vremenskih intervala nisu prikazani. Vremenski interval od 10 minuta predstavlja maksimum interakcija, tako da su vrijednosti ED_{50} , 95% intervali pouzdanosti i pravci doza-odgovor dati za taj vremenski period. P vrijednosti za usporedbu s kontrolnim vrijednostima dobivene su s usporednim pokusima na štakorima, koji su uz anestetik dobili fiziološku otopinu. Dijagrami prikazuju pravce prilagođene rezultatima, te dalje opisanom metodom; radi jasnoće 95% intervali pouzdanosti izvedeni su iz dijagrama. Međutim, važno je naglasiti da su testovi značajnosti razlika između ED_{50} vrijednosti, kao i testovi značajnosti devijacija paralelizma izvedeni iz originalnih podataka. U slučajevima gdje je izgledalo da pravci nisu bili paralelni nije bilo značajne razlike u paralelnosti u statističkim analizama izvedenim iz originalnih podataka.

Odgovori štakora na vanjski podražaj predstavljeni su za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika) i u 10-minutnim intervalima nakon toga, do najduže 2 sata. Usporedbe su učinjene između ocjena odgovora štakora na vanjski podražaj nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

Aktivnost štakora u zatvorenom prostoru i aktivnost štakora u slobodnom prostoru predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika), te nakon

toga u 10-minutnim periodima do najduže 2 sata. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

BPC 157 primijenjen sam nije imao utjecaja na ponašanje normalnih životinja, te nije mogao izazvati katalepsiju, gubitak refleksa uspravljanja ili bilo kakvu somatosenzornu dizorijentaciju u štakora u periodu promatranja.

4.1. Anestetici i spojevi s učinkom sličnim anestheticima

4.1.1. Diazepam

4.1.1.1. Određivanje anesteziji slične potencije

I.p. primjena diazepama u štakora povećala je prosječnu ocjenu anesteziji sličnog učinka (POA) za 60 minuta i produžila vrijeme oporavka na način ovisan o dozi (tablica 2). Diazepam je povećao postotak gubitka refleksa uspravljanja na način ovisan o dozi s vrijednošću ED_{50} 15,1 (13,7-16,5) (grafikon 1).

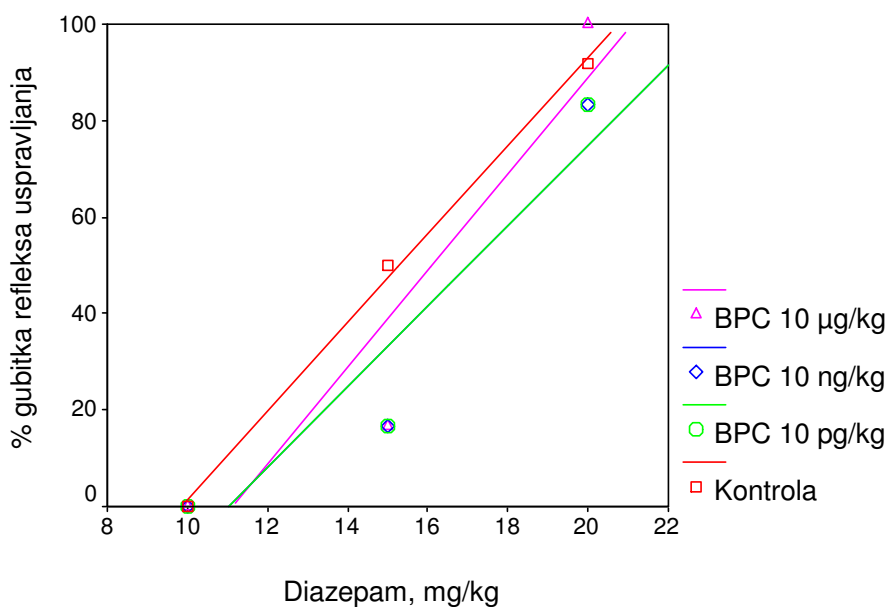
TABLICA 2.

Učinak diazepama na prosječnu ocjenu anestezije (POA), gubitak refleksa uspravljanja (GRU) i vrijeme oporavka RU u štakora

Diazepam (mg/kg)	n	POA	GRU (%)	Vrijeme oporavka (min)
10	6	-	0	-
15	6	$2,1 \pm 0,63$	23	$11,62 \pm 2,65$
20	6	$6,5 \pm 0,29$	59	$31,62 \pm 3,64$

Različite doze diazepama injicirane su intraperitonealno. Vrijednosti POA i vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjek \pm SE). N = broj štakora ispitivanih u svakoj grupi, POA = prosječna ocjena anesteziji sličnog učinka kako je opisano u metodi (za prosječnu ocjenu anestezije), GRU (%) = % štakora koji su pokazali gubitak refleksa uspravljanja, Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak normalnog refleksa uspravljanja.

BPC157 u dozi 10 pg-, 10 ng- i 10 μ g i. p. izazvao je značajan antagonizam djelovanja diazepama ($p < 0,05$), s paralelnim pomakom krivulje doza-odgovor za diazepam udesno (grafikon 1 i tablica 3). ED_{50} za diazepam bila je značajno povećana s 15,1 (13,7-16,5) na 17,3 (15,8-18,9) mg/kg u prisustvu gastričkog pentadekapeptida BPC 157 ($p < 0,05$). U tom vremenskom intervalu promjena ED_{50} vrijednost za diazepam iznosila je + 14% nakon sve tri doze pentadekapaptida BPC 157.



GRAFIKON 1.

Mjerenje gubitka refleksa uspravljanja djelovanjem diazepama.

Prikazani su rezultati nakon primjene fiziološke otopine ili 10 pg / kg BPC, 10 ng / kg BPC ili 10 μ g / kg BPC. Sva mjerenja učinjena su za 10 minuta nakon primjene diazepama. Opća anestetska potencija kalkilirana preko ED_{50} vrijednosti za diazepam, bila je značajno smanjena za 10 pg- , 10- ng i 10- μ g BPC ($p < 0,05$).

Tablica 4 pokazuje učinke tri doze BPC 157 na anestheticima sličnu potenciju induciranu s različitim dozama diazepama.

TABLICA 3.

Učinak BPC 157 na ED₅₀ vrijednosti za gubitak refleksa uspravljanja nastao djelovanjem diazepama

	ED ₅₀	Interval povjerenja 95%-ne pouzdanosti		<i>p</i>
Kontrola	15,1	13,7	16,5	
BPC 10 pg/kg	17,3	15,8	18,9	<0,05
BPC 10 ng/kg	17,3	15,8	18,9	<0,05
BPC 10 µg/kg	17,3	15,8	18,9	<0,05

ED₅₀ vrijednosti predstavljene su za 10 minuta nakon primjene diazepama. Usporedbe su učinjene između ED₅₀ vrijednosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

Diazepam u dozi 10 mg/kg nije doveo do anesteziji sličnih učinaka. BPC 157 je u svim dozama smanjio POA i postotak štakora s gubitkom refleksa uspravljanja i značajno skratio vrijeme oporavka ($p<0,05$) inducirano s diazepamom 15 mg/kg. Za razliku, BPC 157 nije imao značajnog učinka na oporavak poremećaja izazvanog diazepamom 20 mg/kg.

TABLICA 4.

Učinci BPC 157 na prosječnu ocjenu anestezije (POA), gubitak refleksa uspravljanja (GRU) i vrijeme oporavka RU u štakora izloženih djelovanju diazepama 10, 15 i 20 mg/kg i. p.

Tretman	Doza (/kg)	n	POA	GRU (%)	Vrijeme oporavka (min)
Diazepam	10 mg/kg	6	-	-	-
+BPC	10 pg/kg	6	-	-	-
+BPC	10 ng/kg	6	-	-	-
+BPC	10 µg/kg	6	-	-	-
Diazepam	15 mg/kg	6	2,1 ± 0,43	23	11,62 ± 2,65
+BPC	10 pg/kg	6	1,1 ± 0,41*	15	5,83 ± 1,34*
+BPC	10 ng/kg	6	1,5 ± 0,34*	15	4,12 ± 1,63*
+BPC	10 µg/kg	6	1,1 ± 0,23*	15	4,13 ± 1,65*
Diazepam	20 mg/kg	6	6,5 ± 0,29	59	30,62 ± 3,64
+BPC	10 pg/kg	6	6,0 ± 0,25	54	25,12 ± 4,36
+BPC	10 ng/kg	6	5,8 ± 0,31	55	26,45 ± 2,25
+BPC	10 µg/kg	6	5,8 ± 0,35	50	26,23 ± 2,61

Vrijednosti POA, trajanja GRU i vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjek ± SE). N = broj štakora ispitivanih u svakoj grupi, POA = prosječna ocjena anesteziji sličnog učinka kako je opisano u metodi (za prosječnu ocjenu anestezije), GRU (%) = % štakora koji su pokazali gubitak refleksa uspravljanja, Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak normalnog refleksa uspravljanja. * $p<0,05$ vs diazepam, ** $p=0,001$ vs diazepam, *** $p<0,001$ vs diazepam.

4.1.1.2. Odgovor štakora na vanjski podražaj

BPC 157 je značajno poboljšao poremećaj somatosenzorne orijentacije štakora induciran diazepamom 10 mg/kg i 15 mg/kg od 0-20 minute ($p<0,05$). BPC 157 10 ng/kg i 10 μ g/kg značajno je popravio poremećaj somatosenzorne orijentacije štakora induciran diazepamom 20 mg/kg od 30-60 minute ($p<0,05$, $p=0,001$, $p<0,001$) (tablica 5).

TABLICA 5.

Učinci BPC 157 na imobilizirajući učinak i somatosenzornu (diz)orijentaciju izazvanu diazepamom 10 - 20 mg/kg i. p.

Diazepam 10	0	10	20	30	40	50	60
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/0,5/1	0/0,5/1	0/0,5/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,8/1	0/0,8/1
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/1,0/1*	1/1,0/1*	1/1,0/1*	0/0,6/1	0/0,8/1	0/0,8/1	0/0,8/1
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/1,0/1*	1/1,0/1*	1/1,0/1*	0/0,8/1	1/1,0/1	0/0,8/1	0/0,8/1
BPC 157 10 μ g/kg i.p.	1/1,0/1*	1/1,0/1*	1/1,0/1*	0/0,8/1	0/0,8/1	0/0,8/1	1/1,0/1
Diazepam 15							
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/0,3/1	0/0,1/1	0/0,5/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,6/1
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,5/1	0/0,6/1*	1/1,0/1*	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,6/1
BPC 157 10 ng/kg i.p.	0/0,6/1	0/0,5/1	1/1,0/1*	1/1,0/1	1/1,0/1	0/0,8/1	0/0,8/1
BPC 157 10 μ g/kg i.p.	0/0,5/1	0/0,6/1*	1/1,0/1*	0/0,7/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,6/1
Diazepam 20							
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,3/1	0/0,0/0
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,1/1	0/0,6/1	0/0,6/1**
BPC 157 10 ng/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,1/0	0/0,6/1*	0/0,3/1*	0/0,8/1*	0/0,8/1***
BPC 157 10 μ g/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,1/0	0/0,6/1*	0/0,3/1*	0/0,8/1*	1/1,0/1***

* $p<0,05$ vs diazepam, ** $p=0,001$ vs diazepam, *** $p<0,001$ vs diazepam

Odgovor štakora na vanjski podražaj (ocjena 0-4, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 60 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena odgovora štakora na štipanje repa nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.1.3. Aktivnost zatvorenom prostoru

BPC 157 10 ng/kg i 10 µg/kg značajno je popravio oslabljenu aktivnost štakora u kavezu induciranu diazepamom 10 mg/kg od 0-50 minute ($p < 0,05$). BPC 157 u svim dozama značajno je popravio oslabljenu aktivnost štakora induciranu diazepamom 15 mg/kg od 0-20 minute ($p < 0,05$), a poremećaj induciran s 20 mg/kg diazepamom, BPC157 je popravio samo u 10 minuti ($p < 0,05$) (tablica 6).

TABLICA 6.

Učinak BPC 157 na aktivnost štakora u kavezu izloženih djelovanju diazepamom 10 - 20 mg/kg i. p.

Diazepam 10	0	10	20	30	40	50	60
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	1/1,8/2	2/2,0/2	2/2,5/3	2/2,5/3	3/3,6/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/1,3/3	2/2,1/3	2/2,3/3	2/2,3/3	2/3,1/5*
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/2,6/4*	2/2,3/3*	2/2,5/4*	2/2,1/3	2/3,5/5*	2/4,0/5**	3/4,0/5
BPC 157 10 µg/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,1/3	2/2,3/3*	2/3,8/5*	2/3,5/5*	2/3,5/5*	3/4,0/5
Diazepam 15							
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/4	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,5/3*	2/2,5/3*	1/1,8/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/2,5/3*	2/2,5/3*	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,5/4	2/2,0/2	2/2,5/4
BPC 157 10 µg/kg i.p.	2/2,5/3*	2/2,5/3*	2/2,3/3*	2/2,5/4	2/2,5/4	2/2,5/4	2/2,5/4
Diazepam 20							
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/2,0/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,8/2	1/1,8/2	2/2,3/4
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2*	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,8/2	1/1,8/2	1/1,8/2
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/1,8/2	2/2,0/2*	1/1,8/2	1/1,8/2	1/1,8/2	2/2,0/2	2/2,0/2
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/1,8/2	2/2,0/2*	1/1,8/2	1/1,8/2	1/1,8/2	2/2,0/2	2/2,0/2

* $p < 0,05$ vs diazepam, ** $p = 0,001$ vs diazepam, *** $p < 0,001$ vs diazepam.

Aktivnost štakora u kavezu (ocjena 1-8, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene diazepamom), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 60 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.1.4. Aktivnost u slobodnom prostoru

BPC 157 je u sve tri doze značajno popravio poremećaj aktivnosti štakora induciran diazepamom 10-15 mg/kg od 10-40 minute ($p < 0,05$ i $p < 0,001$). BPC 157 10 ng/kg i 10 $\mu\text{g/kg}$ popravio je poremećaj aktivnosti štakora induciran diazepamom 20 mg/kg od 20-50 minute ($p < 0,05$) (tablica 7).

TABLICA 7.

Učinak BPC 157 na spontanu lokomotornu aktivnost štakora u slobodnom prostoru izloženih djelovanju diazepama 10 – 20 mg/kg i. p.

Diazepam 10	0	10	20	30	40	50	60
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/3,8/5	2/3,3/4	4/4,0/4	4/4,0/4	4/4,3/5	4/4,3/5	4/4,3/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/3,8/5	2/3,6/4*	4/4,3/5*	4/4,3/5*	4/4,3/5	4/4,3/5	4/4,3/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	4/4,1/5	4/4,3/5*	5/5,0/5***	4/4,6/5*	4/4,6/5	4/4,6/5	4/4,6/5
BPC 157 10 $\mu\text{g/kg}$ i.p.	2/3,3/4	4/4,0/4*	5/5,0/5***	5/5,0/5*	4/4,6/5	4/4,6/5	4/4,6/5
Diazepam 15							
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,3/4	2/3,6/4	2/3,6/4	2/3,6/4	4/4,3/5	4/4,3/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,6/4	2/2,3/4	2/3,6/4	2/3,6/4	2/3,6/4	4/4,3/5	4/4,3/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/2,3/4	2/23,0/4	2/3,6/5*	2/3,6/5*	2/3,6/5*	4/4,6/5	4/4,6/5
BPC 157 10 $\mu\text{g/kg}$ i.p.	2/2,8/5	2/23,0/4	2/3,6/5*	2/3,6/5*	2/3,6/5*	4/4,6/5	4/4,6/5
Diazepam 20							
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/2,0/4	1/2,0/4	2/2,6/4
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2*	1/1,6/2	2/2,6/4	2/2,6/4	2/2,6/4
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2*	2/2,0/2*	2/2,6/4	2/2,6/4	2/2,6/4
BPC 157 10 $\mu\text{g/kg}$ i.p.	1/1,8/2	1/1,8/2	2/2,0/2*	2/2,0/2*	2/3,0/4*	2/3,0/4*	2/3,0/4

* $p < 0,05$; ** $p = 0,001$ i *** $p < 0,001$

Spontana lokomotorna aktivnost štakora u slobodnom prostoru (ocjena 1-8, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene diazepama), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 60 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.2. Propofol

4.1.2.1. Određivanje anestetske potencije

I.p. primjena propofola u štakora povećala je prosječnu ocjenu anestezije (POA) i produžila vrijeme oporavka na način ovisan o dozi (tablica 8). Propofol je povećao postotak gubitka refleksa uspravljanja na način ovisan o dozi s vrijednošću ED_{50} 82,6 (73,6-92,6) (grafikon 2).

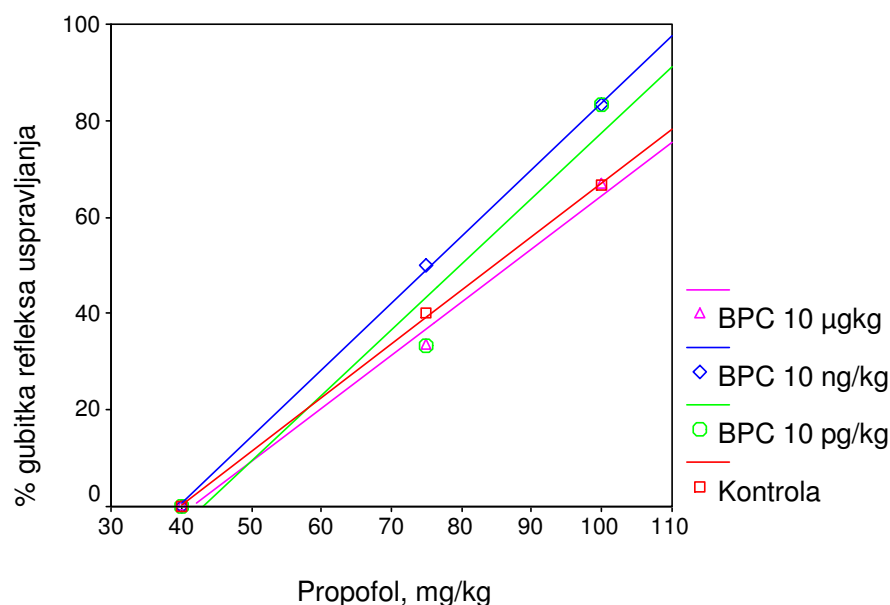
TABLICA 8.

Učinak propofola na prosječnu ocjenu anestezije (POA), gubitak refleksa uspravljanja (GRU) i vrijeme oporavka RU u štakora

Tretman	Doza (mg/kg)	n	POA	GRU (%)	Vrijeme oporavka (min)
Propofol	50	6	‘	-	-
	75	6	$1,4 \pm 0,83$	13	$12,22 \pm 3,06$
	100	6	$4,3 \pm 0,36$	41	$36,48 \pm 3,58$

Različite doze propofola injicirane su intraperitonealno. Vrijednosti POA, trajanja GRU i vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjeck \pm SE). N = broj štakora ispitivanih u svakoj grupi, POA = prosječna ocjena anestezije kako je opisano u metodi, GRU (%) = % štakora koji su pokazali gubitak refleksa uspravljanja, Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak normalnog refleksa uspravljanja.

BPC 157 ni u jednoj dozi nije izazvao značajnu promjenu djelovanja propofola (grafikon 2 i tablica 9).

**GRAFIKON 2.**

Mjerenje gubitka refleksa uspravljanja djelovanjem propofola

Prikazani su rezultati nakon primjene fiziološke otopine ili 10 pg / kg BPC, 10 ng / kg BPC ili 10 µg / kg BPC. Sva mjerenja učinjena su za 10 minuta nakon primjene propofola. Opća anestetska potencija kalkulirana preko ED_{50} vrijednosti za propofol nije bila značajno promijenjena.

TABLICA 9.

Učinak BPC 157 na ED_{50} vrijednosti za gubitak refleksa uspravljanja nastao djelovanjem propofola 100 mg / kg t. t.

	ED_{50}	Interval povjerenja 95%-ne pouzdanosti		<i>p</i>
Kontrola	82,6	73,6	92,6	
BPC 10 pg/kg	82,3	73,0	92,7	0,960
BPC 10 ng/kg	75,4	66,4	85,2	0,231
BPC 10 µg/kg	86,8	77,4	97,8	0,477

ED_{50} vrijednosti predstavljene su za 10 minuta nakon primjene propofola. Usporedbe su učinjene između ED_{50} vrijednosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

Tablica 10 pokazuje učinke tri doze BPC 157 na anestetsku potenciju induciranu s različitim dozama propofola. I. p. primjena propofola 50 mg/kg nije dovela do anestetskih učinaka. BPC 157 nije promijenio POA, ni smanjio postotak štakora s gubitkom refleksa uspravljanja, niti skratio vrijeme oporavka inducirano s propofolom 75 mg i 100 mg/kg.

TABLICA 10.

Učinci BPC 157 na prosječnu ocjenu anestezije (POA), gubitak refleksa uspravljanja (GRU) i vrijeme oporavka RU u štakora izloženih djelovanju propofola i. p.

Tretman	Doza (/kg)	n	POA	GRU (%)	Vrijeme oporavka (min)
Propofol	50 mg/kg	6	-	-	-
Pro+BPC	10 pg/kg	6	-	-	-
Pro+BPC	10 ng/kg	6	0,2	3	1,6
Pro+BPC	10 µg/kg	6	0,1	2	0,8
Propofol	75 mg/kg	6	1,4 ± 0,83	13	12,22 ± 3,06
Pro+BPC	10 pg/kg	6	1,6 ± 0,23	18	13,11 ± 2,28
Pro+BPC	10 ng/kg	6	1,5 ± 0,29	18	13,36 ± 4,43
Pro+BPC	10 µg/kg	6	1,3 ± 0,27	14	11,07 ± 1,29
Propofol	100mg/kg	6	4,3 ± 0,36	41	36,48 ± 3,58
Pro+BPC	10 pg/kg	6	5,3 ± 0,48	46	39,54 ± 4,36
Pro+BPC	10 ng/kg	6	5,4 ± 0,54	48	38,45 ± 4,25
Pro+BPC	10 µg/kg	6	4,6 ± 0,33	51	39,41 ± 3,16

Vrijednosti POA, trajanja GRU i vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjek ± SE). N = broj štakora ispitivanih u svakoj grupi, POA = prosječna ocjena anestezije kako je opisano u metodi, GRU (%) = % štakora koji su pokazali gubitak refleksa uspravljanja, Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak normalnog refleksa uspravljanja. *p<0,05 vs propofol, **p=0,001 vs propofol, ***p<0,001 vs propofol

4.1.2.2. Odgovor štakora na vanjski podražaj

Pentadekapeptid BPC 157 nije imao utjecaja na poremećaj senzomotorne orijentacije štakora induciran propofolom 50 mg/kg i 75 mg/kg. Štakori su imali bolju orijentaciju uz BPC 157, samo 5 minuta nakon primjene propofola 100 mg/kg (p<0,05) (tablica 11).

TABLICA 11.

Učinci BPC 157 na imobilizirajući učinak i somatosenzornu (diz)orijentaciju izazvanu propofolom 50 - 100 mg/kg i. p.

<i>Propofol 50</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/0,1/1	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,6/4	0/0,0/0	0/0,6/4	0/0,0/0	0/0,6/4	0/0,0/0
BPC 157 10 ng/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,5/3	0/0,6/4	0/0,6/4	0/0,6/4	0/0,6/4	0/0,6/4	0/0,6/4	0/0,6/4
BPC 157 10 µg/kg i.p.	0/0,1/1	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,0/0
<i>Propofol 75</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/1,2/2	0/0,8/2	0/1,2/2	0/1,0/1	0/0,6/1	0/1,0/1	1/1,2/2	1/1,2/2	1/1,2/2	1/1,2/2
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,5/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/1,3/2	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/2
BPC 157 10 ng/kg i.p.	0/1,1/4	0/0,8/4	0/0,5/1	0/0,6/1	0/0,8/1	1/1,0/1	0/1,1/2	0/1,0/2	1/1,3/2	1/1,0/2
BPC 157 10 µg/kg i.p.	0/1,1/3	0/0,6/1	0/0,5/1	0/0,8/1	1/1,1/2	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1
<i>Propofol 100</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,1/1	0/0,3/1	0/0,3/1	0/0,5/1	0/0,5/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,3/1*	0/0,1/1	0/0,1/1	0/0,1/1	0/0,1/1	0/0,3/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1
BPC 157 10 ng/kg i.p.	0/0,5/1*	0/0,1/1	0/0,1/1	0/0,1/1	0/0,6/1	0/0,8/1	0/0,8/1	0/0,8/1	1/1,0/1	0/0,8/1
BPC 157 10 µg/kg i.p.	0/0,3/1*	0/0,0/0	0/0,1/1	0/0,1/1	0/0,6/2	0/0,5/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

Odgovor štakora na vanjski podražaj (ocjena 0-4, min/med/max vrijednost) predstavljen je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene propofola), te nakon toga u 10-min periodima do 90 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena odgovora štakora na štipanje repa nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.2.3. Aktivnost u zatvorenom prostoru

BPC 157 je poboljšao oslabljenu aktivnost štakora 5 minuta nakon primjene propofola 50 i 75 mg/kg ($p < 0,05$), te od 70-90 minute ($p < 0,05$). BPC 157 10 ng/kg i 10 µg/kg poboljšao je oslabljenu aktivnost štakora induciranu propofolom 100 mg/kg i. p. samo u 50 minuti ($p < 0,05$) i 90 minuti ($p < 0,001$ i $p < 0,05$), dok u ostalim mjernim točkama razlike nije bilo (tablica 12).

TABLICA 12.

Učinak BPC 157 na aktivnost štakora u kavezu izloženih djelovanju propofola 50 - 100 mg/kg i. p.

<i>Propofol 50</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/2,0/2	1/2,3/3	2/4,0/5	5/5,0/5	3/4,6/5	3/4,6/5	3/4,6/5	5/5,0/5	3/4,6/5	3/4,6/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,8/5*	1/1,6/2	2/4,5/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/2,6/5*	1/2,6/5	2/4,3/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/2,3/5*	1/2,6/5	2/4,5/5	3/4,3/5*	3/4,6/5	3/4,6/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5
<i>Propofol 75</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,8/3	1/2,6/5	1/3,1/5	1/2,8/5	1/3,0/5	1/3,3/5	1/3,3/5	1/3,6/5	2/3,5/5	1/3,1/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/2,3/5	1/2,6/5	1/2,6/5	1/2,6/5	1/2,8/5	2/3,1/5	2/3,1/5	2/2,6/3	2/3,6/5	2/3,6/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/2,6/5*	1/3,1/5	1/3,1/5	1/2,6/5	1/3,3/5	2/3,0/5	2/4,0/5	2/2,6/3	2/3,8/5*	2/4,5/5*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/3,1/5*	1/3,1/5	1/3,1/5	2/3,8/5*	1/3,1/5	2/4,5/5	2/4,0/5	2/4,0/5*	4/4,8/5*	2/4,5/5*
<i>Propofol 100</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,6/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,6/2	1/1,6/3	1/1,6/3	1/2,0/4	1/1,6/2
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/1,6/2	1/1,5/2	1/1,1/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/2,0/3	1/1,6/2	1/1,6/2	1/2,0/4	1/2,0/4
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/2,3/3*	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/2,3/3***
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/1,6/2	1/1,5/2	1/1,5/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/2,3/3*	1/1,6/3	1/1,6/3	1/1,6/2	2/3,0/5*

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

Aktivnost štakora u kavezu (ocjena 1-8, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene propofola), te nakon toga u 10-min periodima do 90 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.2.4. Aktivnost u slobodnom prostoru

Pentadekapeptid BPC 157 nije imao utjecaj na poremećaj aktivnosti štakora u slobodnom prostoru induciran propofolom 50 mg/kg i 75 mg/kg. BPC 157 10 ng/kg i 10 µg/kg popravio je poremećenu aktivnost štakora u slobodnom prostoru induciranu propofolom 100 mg/kg i. p. od 40-90 minute ($p < 0,05$) (tablica 13).

TABLICA 13.

Učinak BPC 157 na spontanu lokomotornu aktivnost štakora u slobodnom prostoru izloženih djelovanju propofola 50 – 100 mg/kg i.p.

<i>Propofol 50</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/3,5/5	2/4,0/5	2/4,0/5	4/4,6/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5	5/5,0/5	4/4,8/5	5/5,0/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/3,8/5	2/4,1/5	2/4,1/5	4/4,8/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/3,5/5	2/4,1/5	2/4,1/5	4/4,8/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/3,3/5	2/3,8/5	2/4,1/5	4/4,8/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5	5/5,0/5
<i>Propofol 75</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/3,1/5	2/4,0/5	2/3,6/5	2/3,3/5	2/4,1/5	2/4,0/5	2/4,5/5	2/4,5/5	4/4,8/5	4/4,8/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/3,3/5	1/3,3/5	1/3,3/5	2/3,6/5	2/3,3/5	2/4,0/5	2/4,0/5	2/4,0/5	4/4,6/5	4/4,6/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/2,6/5	2/3,6/5	2/3,3/5	1/3,0/5	1/3,1/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5	5/5,0/5	5/5,0/5
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/2,6/5	2/3,6/5	2/3,6/5	2/4,0/5	2/4,1/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5
<i>Propofol 100</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,8/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,8/4	1/2,1/4	1/3,1/4	2/3,8/5	2/3,8/5	2/3,8/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/1,8/2	1/1,3/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,8/4	2/2,6/4	2/3,0/4	2/4,0/5	4/4,3/5	4/4,3/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/1,6/2	1/1,1/2	1/1,3/2	1/1,3/2	2/3,3/4*	1/3,1/4*	1/3,3/5	2/3,8/5	2/3,6/5	2/3,6/5
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/1,6/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/3,1/4	2/3,0/4	2/3,6/5*	2/4,1/5	4/4,8/5*	4/4,8/5*

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

Aktivnost štakora u slobodnom prostoru (ocjena 1-8, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene propofola), te nakon toga u 10-min periodima do 90 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.3. Tiopental

4.1.3.1. Određivanje anestetske potencije

I. p. primjena tiopentala u štakora povećala je prosječnu ocjenu anestezije (POA) i produžila vrijeme oporavka na način ovisan o dozi (tablica 14). Tiopental je povećao postotak gubitka refleksa uspravljanja na način ovisan o dozi s vrijednošću ED_{50} 21,1 (10,1-32,1) (grafikon 3).

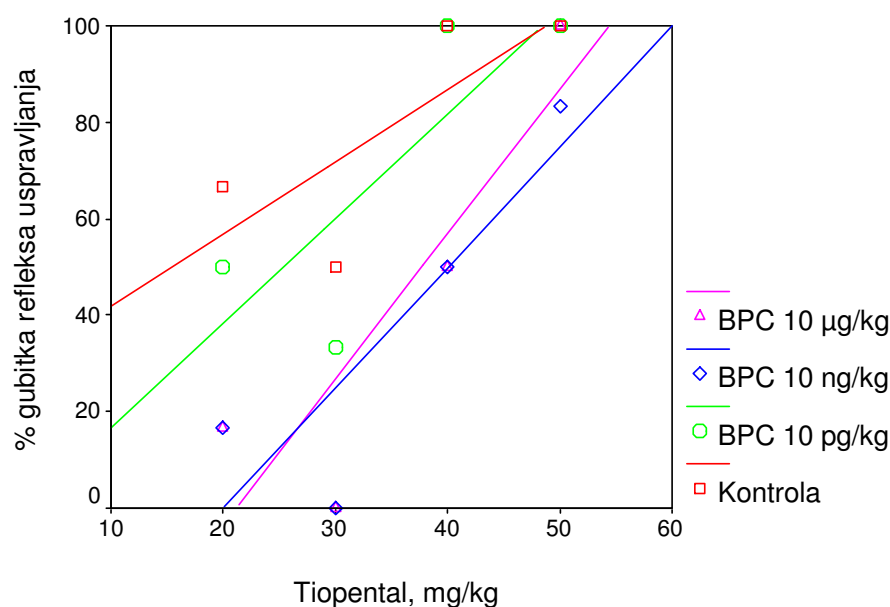
TABLICA 14.

Učinak BPC 157 na prosječnu ocjenu anestezije (POA), gubitak refleksa uspravljanja (GRU) i vrijeme oporavka RU u štakora izloženih djelovanju tiopentala i. p.

Tretman	n	POA	GRU (%)	Vrijeme oporavka (min)
Tiopental:				
20 mg/kg	6	2,5 ± 0,41	23	18,24 ± 2,43
30 mg/kg	6	4,6 ± 0,14	41	35,14 ± 3,23
40 mg/kg	6	5,5 ± 0,35	50	48,12 ± 2,39

BPC 157 je injiciran i. p. 5 minuta prije tiopentala. Vrijednosti POA i vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjek ± SE). N = broj štakora ispitivanih u svakoj grupi, POA = prosječna ocjena anestezije kako je opisano u metodi, GRU (%) = % štakora koji su pokazali gubitak refleksa uspravljanja, Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak normalnog refleksa uspravljanja. * $p < 0,05$ vs tiopental; ** $p = 0,001$ vs tiopental; *** $p < 0,001$ vs tiopental

BPC157 u dozi 10 ng / kg t. t. i 10 µg / kg t. t. izazvao je značajan antagonizam djelovanja tiopentala ($p < 0,05$), s paralelnim pomakom krivulje doza-odgovor za tiopental udesno (tablica 15 i grafikon 3). U 10 min vremenskom intervalu promjena ED_{50} vrijednost za tiopental iznosila je + 87 % za 10 ng/kg i + 76 % za 10 µg/kg BPC 157.

**GRAFIKON 3.**

Mjerenje gubitka refleksa uspravljanja djelovanjem tiopentala.

Prikazani su rezultati nakon primjene fiziološke otopine ili 10 pg / kg BPC, 10 ng / kg BPC ili 10 µg / kg BPC. Sva mjerenja učinjena su za 10 minuta nakon primjene tiopentala. Opća anestetska potencija kalkulirana preko ED_{50} vrijednosti za tiopental, bila je značajno smanjena za 10 ng / kg BPC ($P < 0,05$) i 10 µg / kg BPC ($P = 0,05$).

TABLICA 15.

Učinak BPC 157 na ED_{50} vrijednosti za gubitak refleksa uspravljanja nastao djelovanjem tiopentala

	ED_{50}	Interval povjerenja 95%-ne pouzdanosti		p
Kontrola	21,1	10,1	32,1	
BPC 10 pg/kg	24,2	13,0	36,6	0,671
BPC 10 ng/kg	39,5	26,2	67,8	<0,05
BPC 10 µg/kg	37,2	24,3	62,3	0,05

ED_{50} vrijednosti predstavljene su za 10 minuta nakon primjene tiopentala. Usporedbe su učinjene između ED_{50} vrijednosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

Tablica 16 pokazuje učinke tri doze BPC 157 na anestetske potencije inducirane s različitim dozama tiopental. BPC 157 u ng- μ g dozi je smanjio POA ($p<0,05$) i postotak štakora s gubitkom refleksa uspravljanja, kao i vrijeme oporavka ($p<0,05$) inducirano tiopentalom 20 mg/kg ($p<0,05$). BPC 157 je u svim dozama značajno smanjio POA ($p<0,05$), smanjio postotak štakora s gubitkom refleksa uspravljanja i značajno skratio vrijeme oporavka ($p<0,05$) inducirano tiopentalom 30 mg/kg. BPC 157 u ng- μ g dozi je značajno smanjio POA ($p<0,05$), smanjio postotak štakora s gubitkom refleksa uspravljanja i značajno skratio vrijeme oporavka ($p<0,05$) inducirano s tiopentalom 40 mg/kg.

TABLICA 16.

Učinak BPC 157 na prosječnu ocjenu anestezije (POA), gubitak refleksa uspravljanja (GRU) i vrijeme oporavka RU u štakora izloženih djelovanju tiopental i. p.

Tretman	Doza (/kg)	n	POA	GRU (%)	Vrijeme oporavka (min)
<i>Tiopental</i>	20 mg/kg	6	$2,5 \pm 0,41$	23	$18,24 \pm 2,43$
Tio+BPC	10 pg/kg	6	$2,0 \pm 0,33$	22	$16,41 \pm 1,02$
Tio+BPC	10 ng/kg	6	$0,4 \pm 0,13^*$	6	$3,57 \pm 0,92^*$
Tio+BPC	10 μ g/kg	6	$0,3 \pm 0,08^*$	4	$2,51 \pm 0,52^*$
<i>Tiopental</i>	30 mg/kg	6	$4,6 \pm 0,14$	41	$35,14 \pm 3,23$
Tio+BPC	10 pg	6	$0,8 \pm 0,31^*$	10	$5,59 \pm 1,51^*$
Tio+BPC	10 ng	6	$0,4 \pm 0,17^*$	7	$3,33 \pm 0,92^*$
Tio+BPC	10 μ g	6	$0,4 \pm 0,17^*$	7	$3,37 \pm 1,92^*$
<i>Tiopental</i>	40 mg/kg	6	$5,5 \pm 0,35$	50	$48,12 \pm 2,39$
Tio+BPC	10 pg	6	$5,5 \pm 0,23$	48	$50,07 \pm 4,01$
Tio+BPC	10 ng	6	$1,4 \pm 0,32^*$	16	$11,17 \pm 1,52^*$
Tio+BPC	10 μ g	6	$1,5 \pm 0,41^*$	20	$12,14 \pm 2,76^*$

BPC 157 je injiciran i. p. 5 minuta prije tiopental. Vrijednosti POA i vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjek \pm SE). N = broj štakora ispitivanih u svakoj grupi, POA = prosječna ocjena anestezije kako je opisano u metodi, GRU (%) = % štakora koji su pokazali gubitak refleksa uspravljanja, Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak normalnog refleksa uspravljanja. * $p<0,05$ vs tiopental; ** $p=0,01$ vs tiopental; $p<0,001$ vs tiopental

4.1.3.2. Odgovor štakora na vanjski podražaj

BPC 157 je značajno popravio poremećaj somatosenzorne orijentacije štakora induciran tiopentalom 20-40 mg/kg ($p < 0,05$) (tablica 17).

TABLICA 17.

Učinci BPC 157 na imobilizirajući učinak i somatosenzornu (diz)orijentaciju izazvanu tiopentalom 20 - 40 mg/kg i. p.

<i>Tiopental 20</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,8/2	0/1,0/2	0/1,6/3	0/1,0/2	1/1,6/3	1/1,5/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,5/2
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,6/2	0/0,6/2	0/1,5/3	0/1,1/2	1/1,6/3*	0/1,6/3	2/2,3/3*	1/1,6/2	1/1,6/2	2/2,3/3*
BPC 157 10 ng/kg i.p.	0/1,5/3*	0/3,0/4*	2/2,5/3*	1/2,1/4*	2/2,3/3*	2/2,3/3*	2/2,3/3*	2/2,5/3*	2/2,5/3*	2/2,5/3*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	0/1,6/3*	0/2,1/3*	2/2,3/3*	1/2,1/4*	2/2,3/3*	2/2,3/3*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	1/1,8/3*
<i>Tiopental 30</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/0,5/2	0/0,5/1	0/0,6/2	0/0,6/1	0/0,5/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/1,1/2	0/1,1/2	0/0,6/1
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,3/2	0/1,1/2*	1/1,5/2*	1/1,3/2*	1/1,3/2*	1/1,1/2*	1/1,5/2*	1/1,3/2*	1/1,3/2*	1/1,6/2**
BPC 157 10 ng/kg i.p.	0/0,6/1*	0/1,1/1*	1/1,3/2*	1/1,5/3*	1/1,5/2*	1/1,3/2*	1/2,0/3*	1/1,5/2*	1/1,5/2*	1/1,5/2*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	0/0,6/1*	0/1,3/2*	0/1,0/1*	0/1,5/3*	1/1,3/2*	1/1,3/2*	1/1,5/2*	1/1,5/2*	1/1,5/2*	1/1,3/2*
<i>Tiopental 40</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	0/0,0/0	0/0,0/0	0/0,6/1	0/0,5/1	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,8/2	0/0,8/2	0/1,6/3	1/1,5/2
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,1/2	0/0,3/2	0/0,6/2	0/0,5/2	0/0,6/1	0/0,6/1	0/0,8/2	0/0,8/2	0/1,6/3	1/1,5/2
BPC 157 10 ng/kg i.p.	0/0,3/2*	0/1,1/3*	1/1,6/3*	1/1,5/2*	1/1,5/2*	1/1,5/2*	1/1,3/2*	1/1,3/2*	1/2,1/4*	1/1,8/3*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	0/0,3/2*	0/1,1/3*	1/1,6/3*	1/1,6/3*	1/1,5/2*	1/1,5/2*	1/2,0/2*	1/1,3/2*	1/1,8/3*	1/1,5/2

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

Odgovor štakora na štipanje repa (ocjena 0-4, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 120 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena odgovora štakora na štipanje repa nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.3.3. Aktivnost u zatvorenom prostoru

BPC 157 je u svim dozama od 30 minute popravio poremećaj aktivnosti štakora induciran tiopentalom 20 mg/kg ($p < 0,05$), te poremećaj induciran tiopentalom 30 i 40 mg/kg od 0-90 minute ($p < 0,05$) (tablica 18).

TABLICA 18.

Učinak BPC 157 na aktivnost štakora u kavezu izloženih djelovanju tiopental 20 - 40 mg/kg i. p.

<i>Tiopental 20</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,8/2
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	1/1,8/2	2/2,1/3*	2/2,1/3*	2/2,1/3*	2/2,1/3*	2/2,0/2*	2/2,0/2*	1/1,6/2
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	1/1,8/2	1/1,8/2	1/1,8/2
BPC 157 10 µg/kg i.p.	2/2,1/3	2/2,1/3	2/2,3/4	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,0/4*
<i>Tiopental 30</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,6/2	1/1,8/2	1/1,8/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,5/2	2/2,0/2	1/1,6/2	1/1,6/2	1/1,6/2
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	2/2,0/2*	1/2,3/5	1/1,5/2	1/1,8/2	1/2,0/4	1/2,0/4	2/2,0/2*
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/2,1/3*	2/2,0/2*	2/2,0/2*	1/2,1/4	2/2,3/4*	2/2,0/2*	1/1,8/2	2/2,0/2*	2/2,0/2*	2/2,0/2*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	2/2,1/3*	2/2,3/4*	2/2,3/4*	1/1,8/2	1/2,0/3	1/1,8/2	2/2,3/4*	1/2,1/4	1/2,1/4	2/2,3/4*
<i>Tiopental 40</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,1/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/1,1/2*	1/1,0/1	1/1,3/2	1/1,5/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2	1/1,3/2
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/1,3/2*	1/1,3/2*	1/1,6/2*	1/1,5/2	1/1,5/2	1/1,5/2	1/1,5/2	1/1,5/2	1/1,8/2*	1/1,8/2*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/1,0/1	1/1,3/2*	1/1,5/2*	2/3,0/4*	1/2,0/4*	1/1,5/2	1/1,5/2	1/2,0/4*	1/2,3/4*	1/2,3/4*

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

Aktivnost štakora u kavezu (ocjena 1-8, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 90 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti štakora nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.3.4. Aktivnost u slobodnom prostoru

BPC 157 u ng- μ g dozi je od 0-90 minute poboljšao poremećaj aktivnosti štakora u slobodnom prostoru induciran tiopentalom 20-40 mg/kg ($p < 0,05$). (tablica 19).

TABLICA 19.

Učinak BPC 157 na spontanu lokomotornu aktivnost štakora u slobodnom prostoru izloženih djelovanju tiopentalu 20 - 40 mg/kg i. p.

<i>Tiopental 20</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,0/1	1/1,3/2	1/1,5/2	1/2,3/4	2/3,0/4	2/2,8/5	2/2,3/4	2/2,3/4	2/2,3/4	2/3,5/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/1,6/4	1/2,3/4	1/2,3/4	1/3,0/4	2/3,1/5	2/2,6/4	2/3,1/5	2/3,0/5*	2/2,3/5	2/3,5/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/2,6/4*	1/3,5/4	2/4,0/5*	2/4,0/5	2/4,0/5*	4/4,5/5*	2/3,8/5*	2/3,8/5*	4/4,5/5*	4/4,6/5*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/2,3/4*	1/3,5/5*	2/3,5/5*	2/4,0/5*	2/3,8/5*	4/4,6/5*	2/4,0/5*	2/4,3/5*	2/4,3/5*	4/4,8/5*
<i>Tiopental 30</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,8/5	1/2,3/5	1/1,0/1	1/2,8/5	1/2,6/5	1/2,6/4	1/2,6/4	1/2,8/4	1/2,6/4	1/2,8/5
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/1,5/4*	1/2,1/4	1/2,3/4*	2/4,0/5	2/3,0/4	2/3,3/4	2/3,0/4	2/3,1/5	2/3,5/5	2/2,8/5
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/2,1/5	2/2,6/4*	2/2,8/5*	2/3,5/5	2/4,0/5*	4/4,1/5*	4/4,1/5*	4/4,1/5*	4/4,1/5*	4/4,1/5*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/1,6/2*	1/2,0/4	2/3,0/4**	4/4,3/5*	4/4,1/5*	4/4,3/5*	4/4,3/5*	4/4,5/5*	4/4,5/5*	4/4,5/5*
<i>Tiopental 40</i>										
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,3/2	1/1,5/2	1/1,5/2	1/1,6/2	1/2,0/4	1/2,3/4	1/2,3/4	1/2,8/4
BPC 157 10 pg/kg i.p.	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,5/2	1/1,1/2*	1/1,5/4	1/1,5/4	1/1,1/4
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/1,3/2*	1/1,3/2*	1/2,3/4*	2/2,6/4*	2/2,6/4*	2/2,6/4*	1/2,5/4	2/2,8/5*	2/3,0/5*	2/3,9/5*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/1,1/2	1/1,1/2	2/2,5/3*	1/1,6/4	2/2,6/4*	2/2,6/4*	2/2,6/4	2/3,0/4	2/4,1/5*	2/3,8/5*

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

Aktivnost štakora u slobodnom prostoru (ocjena 1-8, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 90 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti štakora nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.4. Ketamin

4.1.4.1. Određivanje anestetske potencije

I. p. primjena ketamina u štakora povećala je prosječnu ocjenu anestezije (POA) i produžila vrijeme oporavka na način ovisan o dozi (tablica 20). Ketamin je povećao postotak gubitka refleksa uspravljanja na način ovisan o dozi s vrijednošću ED_{50} 73,6 (65,2-82,5) (grafikon 4).

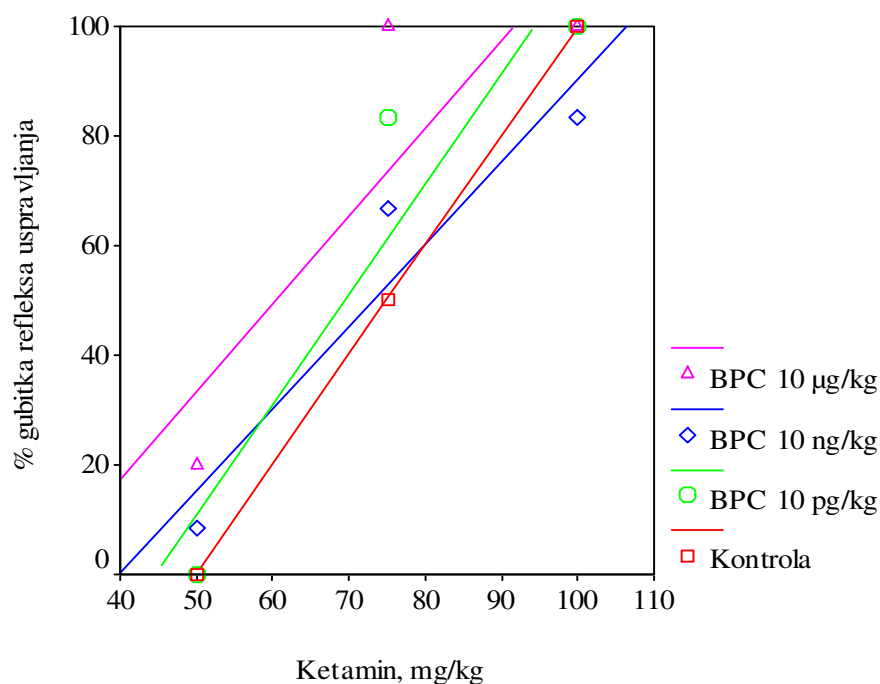
TABLICA 20.

Učinak ketamina na prosječnu ocjenu anestezije (POA), gubitak refleksa uspravljanja (GRU) i vrijeme oporavka RU u štakora

Tretman	n	POA	GRU (%)	Vrijeme oporavka (min)
Ket 50	6	$0,2 \pm 0,11$	4	$2,54 \pm 0,52$
Ket 75	6	$2,2 \pm 0,43$	30	$23,18 \pm 2,64$
Ket 100	6	$3,7 \pm 0,42$	48	$41,17 \pm 3,32$

Različite doze ketamina injicirane su intraperitonealno. Vrijednosti POA, trajanja GRU i vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjeck \pm SE). N = broj štakora ispitivanih u svakoj grupi, POA = prosječna ocjena anestezije kako je opisano u metodi, GRU (%) = % štakora koji su pokazali gubitak refleksa uspravljanja, Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak normalnog refleksa uspravljanja, * $p < 0,05$ vs ketamin; * * $p = 0,001$ vs ketamin; *** $p < 0,001$ vs ketamin

BPC157 nije imao utjecaja na anestetski učinak ketamina (tablica 21 i grafikon 4).

**GRAFIKON 4.**

Mjerenje gubitka refleksa uspravljanja djelovanjem ketamina

Prikazani su rezultati nakon primjene fiziološke otopine ili 10 pg / kg BPC, 10 ng / kg BPC ili 10 µg / kg BPC. Sva mjerenja učinjena su 10 minuta nakon primjene ketamina. Opća anestetska potencija kalkilirana preko ED_{50} vrijednosti za ketamin, nije bila značajno promijenjena.

TABLICA 21.

Učinak BPC 157 na ED_{50} vrijednosti za gubitak refleksa uspravljanja nastao djelovanjem ketamina

	ED_{50}	Interval povjerenja 95%-ne pouzdanosti		<i>p</i>
Kontrola	73,6	65,2	82,5	
BPC 10 pg/kg	65,5	57,6	73,9	0,140
BPC 10 ng/kg	72,1	64,4	80,1	0,777
BPC 10 µg/kg	60,5	52,9	68,3	0,120

ED_{50} vrijednosti predstavljene su za 10 minuta nakon primjene ketamina. Usporedbe su učinjene između ED_{50} vrijednosti nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

Tablica 22 pokazuje učinke tri doze pentadekapeptida BPC 157 na anestetsku potenciju induciranu s različitim dozama ketamina. I. p. doza pentadekapeptida BPC 157 nije imala utjecaja na POA, postotak štakora s gubitkom refleksa kao ni vrijeme oporavka refleksa uspravljanja inducirano s ketaminom.

TABLICA 22.

Učinak BPC 157 na prosječnu ocjenu anestezije (POA), gubitak refleksa uspravljanja (GRU) i vrijeme oporavka RU u štakora izloženih djelovanju ketamina i. p.

Tretman	Doza (/kg)	n	POA	GRU (%)	Vrijeme oporavka (min)
Ketamin	50 mg/kg	6	$0,2 \pm 0,11$	4	$2,54 \pm 0,52$
Ket+BPC	10 pg	6	$0,2 \pm 0,17$	4	$2,17 \pm 0,32$
Ket+BPC	10 ng	6	$0,2 \pm 0,13$	4	$2,53 \pm 0,27$
Ket+BPC	10 μ g	6	$0,3 \pm 0,09$	5	$2,39 \pm 0,12$
Ketamin	75 mg/kg	6	$2,2 \pm 0,43$	30	$23,18 \pm 2,64$
Ket+BPC	10 pg	6	$2,3 \pm 0,44$	32	$23,23 \pm 2,17$
Ket+BPC	10 ng	6	$2,4 \pm 0,40$	38	$24,17 \pm 2,75$
Ket+BPC	10 μ g	6	$2,5 \pm 0,38$	37	$25,27 \pm 2,24$
Ketamin	100mg/kg	6	$3,7 \pm 0,42$	48	$41,17 \pm 3,32$
Ket+BPC	10 pg/kg	6	$3,6 \pm 0,53$	53	$42,12 \pm 3,48$
Ket+BPC	10 ng/kg	6	$3,6 \pm 0,45$	49	$43,35 \pm 2,67$
Ket+BPC	10 μ g/kg	6	$3,9 \pm 0,46$	47	$43,44 \pm 3,38$

BPC 157 je injiciran i. p. 5 minuta prije ketamina. Vrijednosti POA, trajanja GRU i vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjek \pm SE). N = broj štakora ispitivanih u svakoj grupi, POA = prosječna ocjena anestezije kako je opisano u metodi, GRU (%) = % štakora koji su pokazali gubitak refleksa uspravljanja, Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak normalnog refleksa uspravljanja. * $p < 0,05$ vs anestetik sam; ** $p = 0,001$ vs anestetik sam; *** $p < 0,001$

4.1.4.2. Odgovor štakora na vanjski podražaj

Pentadekapeptid BPC 157 je značajno popravio poremećaj somatosenzorne orijentacije štakora induciran ketaminom 50 mg/kg od 50 minute ($p<0,05$, $p=0,001$ i $p<0,001$). Pentadekapeptid BPC 157 10 ng/kg i 10 μ g/kg popravio je poremećaj somatosenzorne orijentacije štakora induciran ketaminom 75 mg/kg od 60 minute ($p<0,05$ i $p<0,001$) i poremećaj induciran ketaminom 100 mg/kg od 80 minute ($p<0,05$) (tablica 23).

TABLICA 23.

Učinci BPC 157 na imobilizirajući učinak i somatosenzornu (diz)orijentaciju izazvanu ketaminom 50 – 100 mg/kg i. p.

<i>Ketamin 50</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/3	2/2,5/3	1/2,3/3	1/1,1/2	1/1,5/3	1/1,1/2	1/1,0/1	2/2,8/3	2/2,8/3	2/2,8/3	2/2,8/3
BPC 157 10 pg/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/3	2/2,3/3	1/2,0/3	2/2,3/3***	2/2,3/3**	1/2,8/4*	1/2,0/3*	2/2,8/3	2/2,8/3	2/2,8/3	2/2,8/3
BPC 157 10 ng/kg i.p.	2/2,3/3	2/2,3/3	2/2,5/3	2/2,6/3	2/2,5/3	1/2,3/3*	2/2,8/3***	1/1,8/2**	1/2,0/3*	1/2,3/3*	2/2,8/3	2/2,8/3	2/2,8/3
BPC 157 10 µg/kg i.p.	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,6/4	2/2,5/3	2/2,5/3	1/2,6/3***	1/2,5/3*	2/2,1/3**	1/2,5/3*	2/2,8/4*	2/2,8/4*	2/2,8/4*	2/2,8/4*
<i>Ketamin 75</i>													
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,3/2	0/1,1/3	1/2,0/3	2/2,5/3	2/2,1/3	2/3,0/4	1/2,6/3	2/2,6/3	2/2,6/3	2/2,6/3
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,8/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,1/2	0/0,8/1	1/1,6/2	2/2,5/3	1/1,8/3	2/2,5/3	2/2,5/3*	2/2,5/3	2/2,5/3	2/2,5/3
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/1,1/2	0/0,8/1	0/0,8/1	1/1,1/2	0/0,8/1	1/1,6/2	2/2,8/3*	3/3,0/3***	3/3,0/3***	2/2,5/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	0/0,8/1	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,1/2	1/1,6/2	2/2,0/2	3/3,0/3***	3/3,0/3***	2/2,5/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*
<i>Ketamin 100</i>													
NaCl 0,9% 5ml/kg i.p.	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,3/2	1/1,5/3	2/2,5/3	2/2,5/3	2/2,3/3	2/2,3/3	1/2,5/3	2/2,6/3	1/2,1/3	2/2,6/3
BPC 157 10 pg/kg i.p.	0/0,8/1	1/1,0/1	1/1,0/1	1/1,1/2	1/1,0/1	2/2,2/3	2/2,2/3	2/2,1/3	2/2,3/3	2/2,5/3	2/2,6/3	2/2,5/3	2/2,6/3
BPC 157 10 ng/kg i.p.	1/1,1/2	1/1,0/1	1/1,1/2	1/1,6/3*	1/1,8/3	2/2,6/3	2/2,5/3	2/2,5/3	2/2,5/3	3/3,0/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*
BPC 157 10 µg/kg i.p.	1/1,1/2	1/1,0/1	1/1,0/1	2/2,0/2*	1/1,8/3	2/2,5/3	2/2,5/3	2/2,5/3	3/3,0/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*	3/3,0/3*

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

Odgovor štakora na vanjski podražaj (ocjena 0-4, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 120 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena odgovora štakora na štipanje repa nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.4.3. Aktivnost u zatvorenom prostoru

Uz BPC 157 općenito ispoljila se promjena aktivnosti štakora u kavezu inducirana ketaminom. U 50 minuti, štakori kontrolne skupine kratkotrajno su ispoljili brzo kretanje inducirano ketaminom 50 mg/kg. BPC 157 10 ng i 10 µg/kg odgodio je pojavu brzog kretanja do 70 minute, ali je ono trajalo do 90 minute ($p < 0,001$). U 120 minuti štakori kontrolne skupine kratkotrajno su ispoljili brzo kretanje inducirano ketaminom 75 mg/kg. BPC 157 10 µg/kg inducirao je brzo kretanje od 90-120 minute ($p < 0,05$ i $p = 0,01$). Pentadekapeptid BPC 157 10 ng/kg i 10 µg/kg izazvao je promjenu aktivnosti štakora induciranu ketaminom 100 mg/kg u vidu brzog kretanja koje je trajalo od 90-120 minute ($p < 0,001$ i $p < 0,05$) (tablica 24).

TABLICA 24.

Učinak BPC 157 na aktivnost štakora u kavezu izloženih djelovanju ketamina 50 - 100 mg/kg i. p.

<i>Ketamin 50</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
NaCl 0,9%	2/2,3/3	2/2,8/4	2/2,8/3	2/3,3/4	3/5,5/6	4/5,6/6	2/4,1/5	3/4,5/5	5/5,0/5	5/5,0/5	4/4,1/5	4/4,1/5	5/5,0/5
BPC 10 pg/kg	2/2,0/2*	2/2,5/3	2/2,6/3	2/2,5/3*	3/3,5/4***	2/2,6/4***	2/3,3/4*	3/3,8/4*	2/5,1/6***	4/4,5/5*	2/3,1/4***	3/4,3/5	3/4,3/5
BPC 10 ng/kg	2/2,5/3	3/3,0/3*	2/2,8/3	2/3,8/4*	2/3,1/4***	2/3,3/4*	2/3,3/4*	6/6,0/6***	6/6,0/6***	5/5,9/6***	6/6,0/6***	3/4,3/5	3/4,3/5
BPC 10 µg/kg	2/2,5/3	2/2,8/4	2/2,8/3	2/3,6/4	3/3,5/4***	2/3,3/4**	2/3,3/4*	4/5,9/6***	2/5,9/6***	4/5,9/6***	3/4,3/5	3/4,3/5	4/4,1/5
<i>Ketamin 75</i>													
NaCl 0,9%	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/3,0/4	3/3,5/4	3/3,5/4	3/4,0/5	2/3,7/4	4/4,1/5	4/4,3/5	6/6,0/6
BPC 10 pg/kg	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/3*	2/2,6/4	2/3,0/4*	2/3,0/4*	2/3,3/4*	3/3,8/4	3/3,8/4*	3/3,8/4*	4/4,1/5***
BPC 10 ng/kg	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,5/3*	2/2,8/3***	3/3,1/4	3/3,1/4	2/2,8/3**	3/3,3/4	3/3,5/4*	3/3,8/4*	4/5,8/6
BPC 10 µg/kg	1/2,0/4*	1/1,5/4***	1/1,5/4***	2/2,1/3	2/2,3/4	2/2,5/3*	2/3,5/4	2/3,5/4	2/3,5/4	2/4,1/6*	2/4,1/6*	4/5,2/6**	4/5,8/6
<i>Ketamin 100</i>													
NaCl 0,9%	1/1,8/2	1/1,8/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,1/3	2/2,8/3	3/3,3/4	3/3,5/4	2/2,6/3	3/3,1/4	4/4,6/5	4/4,6/5	4/4,6/5
BPC 10 pg/kg	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,5/3	3/3,0/4	2/3,3/4	2/2,8/3	3/3,1/4	4/4,6/5	4/4,6/5	4/4,6/5
BPC 10 ng/kg	1/2,0/3	1/2,0/3	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/3	2/2,5/3	3/3,0/4	3/3,5/4	2/3,3/4*	6/6,0/6***	6/6,0/6***	6/6,0/6***	6/6,0/6***
BPC 10 µg/kg	1/2,1/3	1/2,0/3	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,5/3	2/2,6/3	3/3,0/4	2/3,3/4	3/3,6/4	3/4,3/5	4/5,0/6***	4/5,0/6***	4/4,8/6*

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

Aktivnost štakora u kavezu (ocjena 1-8, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 120 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti štakora nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.1.4.4. Aktivnost u slobodnom prostoru

Uz BPC 157 10 µg/kg u prvih 10 minuta pojačala se aktivnost štakora u slobodnom prostoru inducirana ketaminom 50 mg/kg ($p < 0,001$ i $p < 0,05$). Uz BPC 10 µg/kg ispoljilo se brzo kretanje inducirano ketaminom 75 mg/kg koje je trajalo od 80-120 minute ($p < 0,001$). BPC 157 10 ng/kg i 10 µg/kg je samo u kratkim periodima značajnije popravio poremećaj aktivnosti štakora induciran ketaminom 100 mg/kg (tablica 25).

TABLICA 25.

Učinak BPC 157 na spontanu lokomotornu aktivnost štakora u slobodnom prostoru izloženih djelovanju ketamina 50 – 100 mg/kg i. p.

<i>Ketamin 50</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
NaCl 0,9%	2/2,0/2	2/2,0/4	2/2,6/4	2/3,3/4	2/4,8/5	4/4,6/5	2/4,3/5	4/4,8/5	4/4,6/5	5/5,0/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5
BPC 10 pg/kg	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/4	2/2,6/4	2/4,6/5	4/4,3/5	2/4,3/5	4/4,5/5	4/4,5/5	5/4,7/5	4/4,0/5	4/4,5/5	4/4,5/5
BPC 10 ng/kg	2/2,0/2	2/2,0/2	2/3,0/4	2/3,0/4	2/4,3/5	4/4,4/5	2/4,6/5	4/4,6/5	5/5,0/5*	5/5,0/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5
BPC 10 µg/kg	2/2,6/3***	2/3,1/4*	2/2,8/4	2/3,0/4	2/4,6/5	4/4,5/5	2/4,1/5	4/4,5/5	4/4,6/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5	4/4,8/5
<i>Ketamin 75</i>													
NaCl 0,9%	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/4	2/3,0/4	2/3,3/4	2/3,3/4	2/3,6/4	4/4,1/5	4/4,1/5	4/4,3/5	4/4,3/5
BPC 10 pg/kg	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/4	2/3,0/4	2/3,0/4	2/3,0/4	3/3,8/4	3/3,8/4	4/4,1/5	4/4,0/5
BPC 10 ng/kg	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/4	2/2,5/4	3/3,3/4**	3/3,3/4**	3/3,1/4***	4/4,2/5	4/4,2/5	4/4,2/5	4/4,1/5
BPC 10 µg/kg	2/2,3/4	2/2,3/4	2/2,3/4	2/2,3/4	2/2,3/4	2/2,6/4	2/3,3/4	2/3,3/4	4/5,3/6**	4/5,0/6***	4/5,8/6***	4/5,2/6***	4/5,9/6***
<i>Ketamin 100</i>													
NaCl 0,9%	2/2,0/2	2/2,1/3	2/2,1/3	2/2,1/3	2/2,1/3	2/3,3/8	2/3,3/8	2/3,0/4	2/3,0/4	2/3,3/4	2/3,3/4	4/4,1/5	4/4,1/5
BPC10 pg/kg	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,1/3	2/3,3/3	2/3,3/3	2/2,3/3	2/2,3/3	3/3,3/4	2/2,6/4	2/3,6/4	2/3,6/4
BPC 10 ng/kg	2/2,1/3	2/2,1/3	2/2,3/3*	2/2,1/3	2/2,3/3*	2/3,1/8	2/3,1/8	2/3,1/8	2/3,0/4	2/3,5/4	2/3,2/4	4/4,0/4	4/4,0/4
BPC 10 µg/kg	2/2,1/3	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,0/2	2/2,3/3*	2/2,3/3	2/2,3/3	2/2,5/4	2/2,5/4	2/3,0/4	2/3,3/4	3/3,6/4	4/4,1/5

*p<0,05; **p=0,01; ***p<0,001

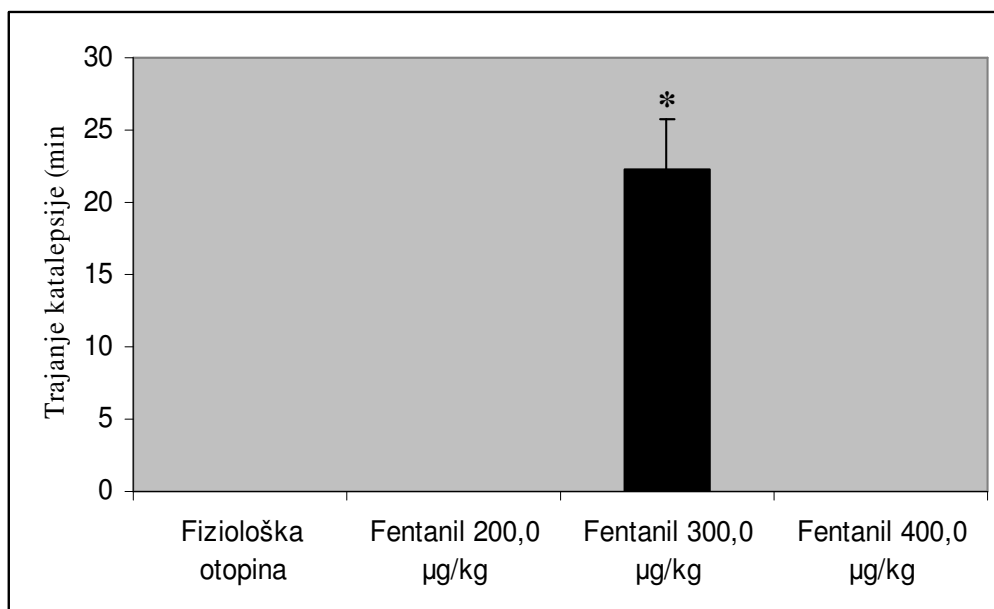
Aktivnost štakora u slobodnom prostoru (ocjena 1-8, min/med/max vrijednost) predstavljena je za vrijeme 0 (5 minuta nakon primjene anestetika), te nakon toga u 10-minutnim periodima do 120 minute. Usporedbe su učinjene između ocjena aktivnosti štakora nakon primjene tri doze BPC 157 i fiziološke otopine.

4.2. Anestetici s učinkom katalepsije

4.2.1. Fentanil

4.2.1.1. Određivanje kataleptičke potencije

Štakori kojima je injicirana fiziološka otopina nisu pokazali znake katalepsije u trajanju dužem od 20 sekundi u periodu od 120 min. Fentanil, agonist μ receptora inducirao je katalepsiju u štakora, koja je započela 1-2 minute nakon injekcije i trajala 20-30 minuta. Fentanil je inducirao kataleptički odgovor u uskom rasponu doza. Kumulativno trajanje katalepsije u štakora kojima je injiciran fentanil 300 $\mu\text{g/kg}$ t. t. iznosila je $22,23 \pm 3,56$ min ($n = 6$) (grafikon 5). Katalepsija inducirana fentanilom bila je popraćena Straubovim fenomenom, koji je opažen kod mišićne rigidnosti.

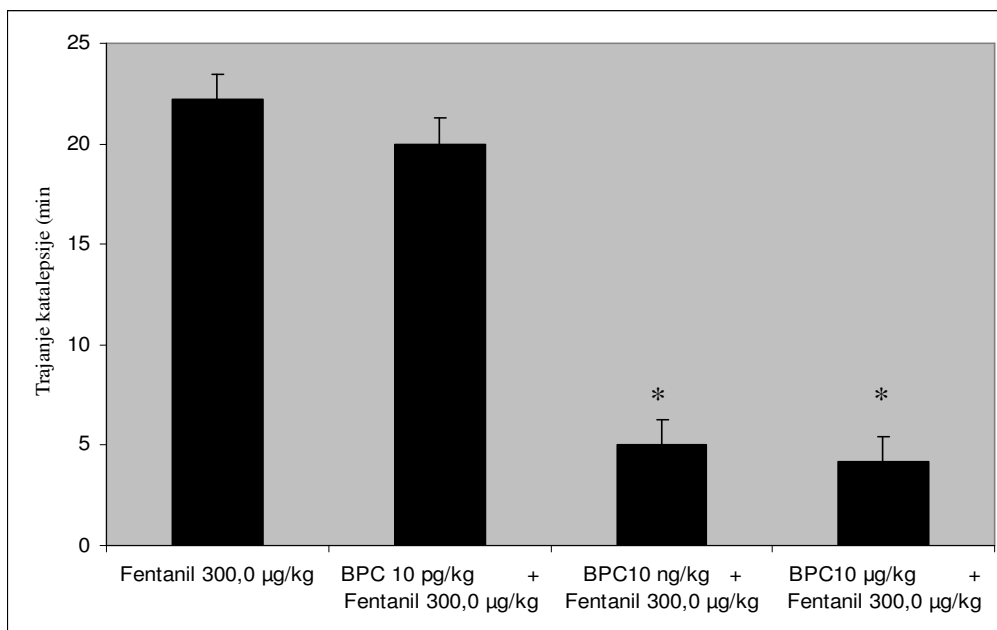
**GRAFIKON 5.**

Učinak akutne primjene fentanila na razvoj katalepsije na prečki u štakora

Štakorima je injicirana fiziološka otopina ili fentanil (200,0-400,0 µg / kg i. p.). Vrijeme u kojem su štakori ostali u kataleptičkom položaju bilježeno je kumulativno 120 minuta nakon injekcije. Vrijednosti predstavljaju prosjek \pm SE 6 štakora u svakoj skupini. * $p < 0,05$ prema kontroli.

BPC 157 10 ng/kg i 10 µg/kg je značajno skratio vrijeme oporavka katalepsije inducirano s fentanilom 300,0 µg/kg ($p < 0,05$) (grafikon 6). Kumulativno trajanje katalepsije u štakora kojima je injiciran pentadekapeptid BPC 157 10 ng/kg t.t. iznosilo je $5,23 \pm 1,23$ min ($n = 6$), te $4,15 \pm 1,26$ min u štakora kojima je BPC 157 injiciran u dozi 10 µg/kg t.t. ($n = 6$) (grafikon 6). Vrijeme oporavka katalepsije se skratilo + 76% za 10 ng/kg i + 81% za 10 µg/kg BPC 157. Fentanil u dozi 200,0 µg/kg nije doveo do razvoja katalepsije u štakora. Štakori kojima je apliciran fentanil 400 µg/kg ispoljili su uvrtnje trupa, sa stražnjim šapama u položaju adukcije ili su

izgledali dezorijentirani i padali. Uvrtanja je slijedio letalni ishod u nekolicine štakora. BPC 157 nije imao značajnog utjecaja na oporavak poremećaja induciranog s fentanilom 400 µg/kg.



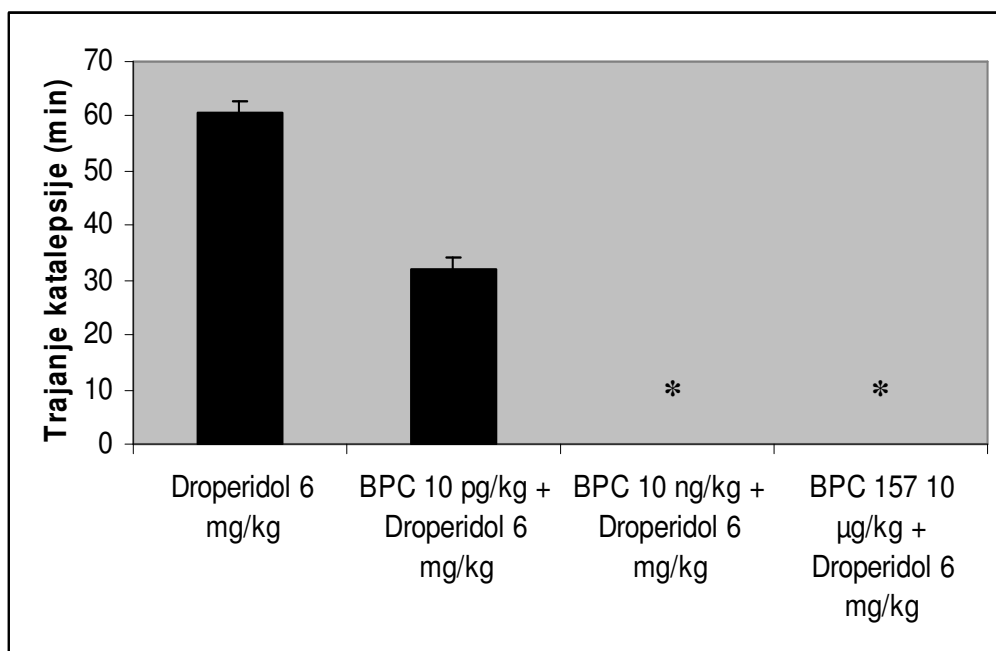
GRAFIKON 6.

Učinak pentadekapeptida BPC 157 na katalepsiju u štakora induciranu s fentanilom 300 µg/kg

Štakorima je injicirana fiziološka otopina ili pentadekapeptid BPC 157 (10 pg, 10 ng, 10 µg/kg, i. p.) 5 min prije fentanila 300 µg / kg i. p.. Vrijednosti predstavljaju kumulativno trajanje i prosjek ± SE 6 štakora kroz 120 min. * p < 0,05 prema kontroli.

4.2.2. Dehidrobenzperidol (droperidol)

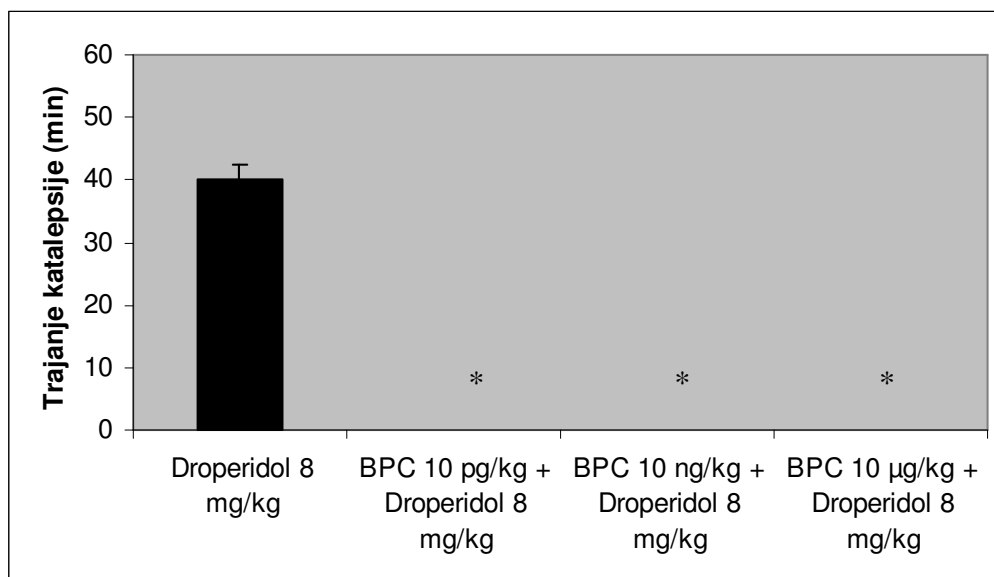
Droperidolom inducirana katalepsija bila je dužeg trajanja od katalepsije izazvane fentanilom. U dozama za koje je poznato da izazivaju katalepsiju, dehidrobenzperidol je imao kataleptogeni učinak, koji je bio izrazit kod doze 6 mg / kg t. t., a kod doze od 8 mg / kg t. t. katalepsija na prečki se pojavila tek u drugom satu i bila je slabije izražena. Općenito, slabljenje stabilne dehidrobenzperidolske katalepsije bilo je evidentno ukoliko je u pretretmanu bio dat pentadekapeptid BPC 157. Primjena pentadekapeptida BPC 157 u dozi od 10 µg ili 10 ng / kg t. t. slabila je katalepsiju na prečki u štakora tretiranih droperidolom sa statistički značajnom razlikom prema kontroli na razini $p < 0,05$ (grafikon 7 i grafikon 8). Kumulativno trajanje katalepsije u štakora kojima je injiciran droperidol 6 mg/kg t. t. iznosilo je $60,45 \pm 2,25$ min ($n = 6$), dok ona nije bila izražena u štakora kojima je injiciran pentadekapeptid BPC 157 u ng-µg dozama (grafikon 7). Vrijeme katalepsije skraćeno je + 100 % za 10 ng/kg i 10 µg/kg pentadekapeptida BPC 157.



GRAFIKON 7.

Katalepsija na prečki, droperidol 6 mg/kg t. t.

Učinak pentadekeptida BPC 157 (10 pg, 10 ng, 10 µg kg⁻¹ i.p.) na dehidrobenzperidolom (6 mg/kg i. p.) induciranu katalepsiju u štakora. BPC 157 je bio injiciran 5 min prije dehidrobenzperidola. Štakori su promatrani 120 min. Vrijednosti predstavljaju prosjek ± SE 6 štakora u svakoj skupini. * p < 0,05 prema kontroli.



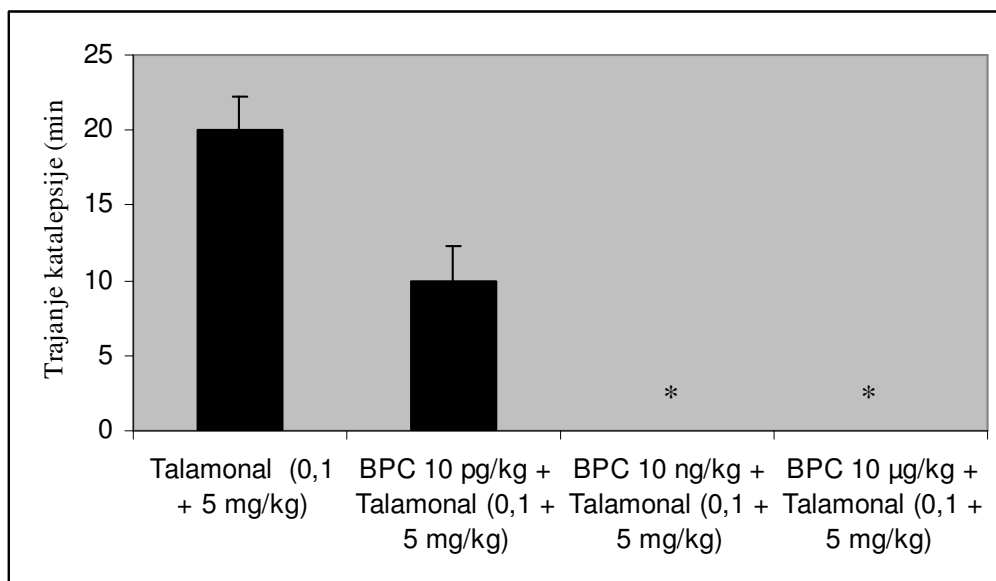
GRAFIKON 8.

Katalepsija na prečki, droperidol 8 mg/kg t. t.

Učinak pentadekeptida BPC 157 (10 pg, 10 ng, 10 µg kg⁻¹ i.p.) na dehidrobenzperidolom (8 mg/kg i. p.) induciranu katalepsiju u štakora. BPC 157 je bio injiciran 5 min prije dehidrobenzperidola. Štakori su promatrani 120 min. Vrijednosti predstavljaju prosjek ± SE 6 štakora u svakoj skupini. * p < 0,05 prema kontroli.

4.2.3. Talamonal

I. p. aplikacija talamonal (0,1 mg / kg t. t. fentanila + 5,0 mg / kg t. t. droperidola) nije izazvala istaknutu ispoljenost katalepsije na prečki u tretiranih štakora u trajanju do 2 sata (grafikon 9). Kumulativno trajanje katalepsije u štakora kojima je injiciran talamonal (fentanil 0,1 mg / kg t. t. + droperidol 5,0 mg / kg t. t.) iznosilo je $20,00 \pm 2,28$ min (n = 6), dok katalepsija nije bila izražena u štakora kojima je injiciran pentadekapeptid BPC 157 u ng- μ g dozama (grafikon 9).

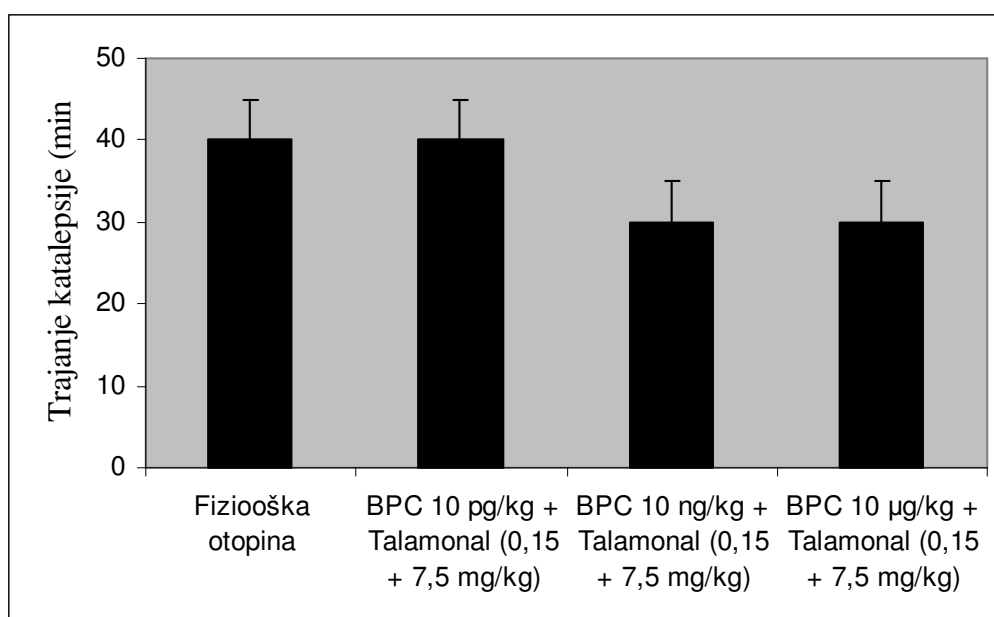


GRAFIKON 9.

Katalepsija na prečki, talamonal (fentanil 0,1 mg / kg t. t. + droperidol 5,0 mg / kg t. t.)

Učinak pentadekeptida BPC 157 (10 pg, 10 ng, 10 μ g / kg t. t. i.p.) na talamonom (fentanil 0,1 mg / kg t. t. + droperidol 5,0 mg / kg t. t.) induciranu katalepsiju u štakora. BPC 157 je bio injiciran 5 min prije dehidrobenzperidola. Štakori su promatrani 120 min. Vrijednosti predstavljaju prosjek \pm SE 6 štakora u svakoj skupini. * p < 0,05 prema kontroli.

Pentadekapeptid BPC 157 nije djelovao na katalepsiju na prečki kod više doze (0,15 mg / kg t. t. fentanila + 7, 5 mg / kg t. t. droperidola) talamonal primijenjene i. p. (grafikon 10).



GRAFIKON 10.

Katalepsija na prečki, talamonal (fentanil 150,0 µg / kg t. t. + droperidol 7,5 mg / kg t. t.)

Učinak pentadekeptida BPC 157 (10 pg, 10 ng, 10 µg /kg t. t. i.p.) na talamonom (fentanil 0,15 mg / kg t. t. + droperidol 7,5 mg / kg t. t.) induciranu katalepsiju u štakora. BPC 157 ili fiziološka otopina injicirani su 5 min prije dehidrobenzperidola. Štakori su promatrani 120 min. Vrijednosti predstavljaju prosjek ± SE 6 štakora u svakoj skupini. * $p < 0,05$ prema kontroli.

4.3. Pregled učinaka pentadekapeptida BPC 157 na vrijeme oporavka štakora izloženih djelovanju različitih anestetskih lijekova

Pentadekapeptid BPC 157 mijenja anestetsku potenciju ispitivanih spojeva i vrijeme oporavka štakora (tablica 26).

TABLICA 26.

Rezultati različitih pokusa s izračunatim vrijednostima vremena oporavka za štakore izložene djelovanju anestetskih lijekova u prisustvu pentadekapeptida BPC 157 i. p. (prosjeak \pm SE)

ANESTETSKI LIJEK	VRIJEME OPORAVKA (MIN)	VRIJEME OPORAVKA _{BPC 157} (MIN)	RELATIVNA PROMJENA (%)
Diazepam	11,62 \pm 2,65	4,13 \pm 1,65*	64
Tiopental	35,14 \pm 3,23	3,37 \pm 1,92*	89
Fentanil	22,23 \pm 3,56	4,15 \pm 1,26*	81
DHBP	60,15 \pm 2,25	0,00 \pm 0,00*	100
Talamonal	20,00 \pm 2,28	0,00 \pm 0,00*	100
Propofol	12,22 \pm 3,06	11,07 \pm 1,29	-
Ketamin	23,18 \pm 2,64	25,27 \pm 2,24	-

BPC 157 10 μ g/kg je injiciran i. p. 5 minuta prije anestetskih lijekova. Vrijednosti vremena oporavka predstavljaju prosjek (prosjeak \pm SE). Vrijeme oporavka (min) = vrijeme potrebno za oporavak imobilnosti štakora. * Izračunate vrijednosti vremena oporavka za anestetske lijekove značajno različite prema kontrolnim skupinama.

5. RASPRAVA

5.1. Primarni zaključci rezultata

Pentadekapeptid BPC 157 antagonizira opću anestetsku potenciju tiopental. Anestetska potencija propofola i ketamina ostaju nepromijenjene. Pomak pravca doza-odgovor udesno interpretiran je kao antagonizam anestezije, bez upućivanja na neizostavnu uključenost kompetitivne interakcije na receptorima. Pentadekapeptid BPC 157 antagonizira anesteziji sličan učinak diazepama, te katalepsiju izazvanu fentanilom, dehidrobenzperidolom i talamonalom. Kod svih ispitivanih spojeva ostvaren je različit somatosenzorni i motorni oporavak, po obrascu koji odgovara interakciji pentadekapeptida BPC 157 u putovima selektiranim djelovanjem pojedinog spoja. Interakcije pokazane u ovim pokusima zbirno su prikazane u tablici 27.

Potenciranje učinka GABA-e viđeno je s različitim tipovima spojeva, npr. barbituratima (81), steroidima (82), inhalacijskim spojevima (83) i propofolom (84). Međutim, takvo potenciranje viđeno je također kod benzodiazepina, koji ne dovode do stanja koje poznamo kao opću anesteziju do doza približnih letalnim (85) iako ovi lijekovi potenciraju opće anestetsko djelovanje drugih lijekova. Iz ranijih pokusa je poznato da BPC 157 djeluje tako da favorizira prirodnu homeostazu GABA receptorskog kompleksa (73). BPC 157 antagonizira sedativno / hipnotsko djelovanje diazepama i jača aktivnost štakora u mjestu, ali ne lokomociju, što se može objasniti time da je diazepam lijek kod kojeg nema dopaminske (DA) transmisije. Samo djelovanje benzodiazepina u ovoj klasi receptora može biti specifično antagonizirano (86). Flumazenil, imidazobenzodiazepin, antagonist je benzodiazepina koji

kompetitivnom inhibicijom blokira središnje učinke spojeva koji djeluju preko benzodiazepinskih receptora. Fizostigmin poništava sedaciju izazvanu velikim brojem različitih spojeva, pa tako i benzodiazepina nespecifičnim, vjerojatno nekompetitivnim tipom antagonizma, po svoj prilici stimulacijom kolinergičkih neurona presudnih za pažnju i aktivaciju moždane kore.

Za učinke intravenskih anestetika, uključujući propofol, općenito se misli da su posredovani GABA_A mehanizmom (87, 88). Propofol pokazuje začudo malo ovisnosti o vrsti β podjedinica GABA receptora, mada jednake mutacije u β_2 ili β_3 podjedinicama imaju učinak na ovaj anestetik. Propofolom inducirana supresija refleksa povlačenja na bolni podražaj (imobilizirajuće djelovanje) bila je kompletno ukinuta u miševa s mutacijom na β_3 podjedinici GABA_A receptora (89). Mada je oporavak gubitka refleksa uspravljanja induciran propofolom bio ubrzan u β_3 životinja (89), sam po sebi on nije bio blokiran. To pokazuje da je izravno hipnotsko djelovanje lijeka bilo relativno sačuvano u ovih GABA_A receptor knock-in miševa (89). Ovi rezultati su u suglasju s ranijim farmakološkim ispitivanjima koja su pokazala da je samo imobilizirajući, ali ne i hipnotski, učinak propofola osjetljiv na sustavnu primjenu blokatora GABA_A receptora (4, 90). Propofol može posredovati druge klinički relevantne učinke neovisno o GABA_A receptorima, vjerojatno preko alternativnih ionskih mehanizama. Chen X i sur., (2005) (91) su otkrili da propofol selektivno inhibira kanale koji posreduju I_h u kortikalnim piramidalnim neuronima. Propofol može također inhibirati apamin-osjetljive kalcijem-aktivirane K^+ struje (92) i povećati sinaptičku i toničku aktivnost GABA_A struja u neuronima neokorteksa i hipokampusa (93).

TABLICA 27.

Prikaz mjesta djelovanja i interakcija ispitivanih i. v. anestetika i pentadekapeptida BPC 157

Lijek	Mjesto djelovanja	transmisija DOPAMINA	Bazalni učinci lijeka	Učinci BPC 157
Diazepam	Moždana kora	- nema	- GRU - ED ₅₀ sedativnog učinka 15,1 (13,7-16,5)	- smanjen % GRU - ED ₅₀ povećana na 17,3 (15,8-18,9) mg/kg, - poboljšana somatosenzorna orijentacija - povećana aktivnost u mjestu - skraćeno vrijeme oporavka. antagonizira sedativno/hipnotski učinak
Propofol	Moždana kora	- inhibira oslobađanje DA u NAc	- GRU - ED ₅₀ anestetskog učinka 82,6 (73,6-92,6)	- nepromijenjen % GRU - nepromijenjena ED ₅₀ , - somatosenzorna orijentacija poboljšana samo u 5 min (propofol 100 mg/kg), inače bez promjene - lokomotorna aktivnost poboljšana od 40 min (propofol 100 mg/kg), inače bez promjene - nepromijenjeno vrijeme oporavka ne mijenja anestetski učinak
Tiopental	Moždana kora, piramidne stanice malog mozga, n. cuneatus, <i>substantia nigra</i> , presinaptički u kralješničnoj moždini, talamus i ascedentni putovi retikularne formacije.	- značajno smanjuje oslobađanje DA u NAc - inhibira ketaminom inducirano oslobađanje DA	- GRU - ED ₅₀ anestetskog učinka 21,1 (10,1-32,1)	- smanjen % GRU - ED ₅₀ povećana na 39,5 (26,2-67,8) mg/kg - skraćeno vrijeme oporavka antagonizira anestetski učinak

TABLICA 27. (nastavak)

Prikaz mjesta djelovanja i interakcija ispitivanih i. v. anestetika i pentadekapeptida BPC 157

Lijek	Mjesto djelovanja	transmisija DOPAMINA	Bazalni učinci lijeka	Učinci BPC 157
Ketamin	Funkcionalno i elektrofiziološko odvajanje talamo-neokortikalnog i limbičkog sustava.	<ul style="list-style-type: none"> - povećava učestalost okidanja DA neurona u VTA - ne modulira nigrostrijatalnu DA funkciju - obrt DA u strijatumu snižen ili nepromijenjen - inducira disfunkciju mezolimbickih i mezo-kortikalnih DA neurona 	<ul style="list-style-type: none"> - GRU - ED₅₀ anestetskog učinka 73,6 (65,2-82,5) - inducirana pojava brzih pokreta u 40 min 	<ul style="list-style-type: none"> - nepromijenjen % GRU - nepromijenjena ED₅₀ - poboljšana somatosenzorna orijentacija s 50 mg/kg; uz više doze slabije izraženo - potencirano ispoljavanje i duže trajanje brzih pokreta od 70 min <p>Poboljšava somatosenzornu orijentaciju, potencira motorni oporavak i brzo kretanje u post-anestetskom periodu</p>
Fentanil	Talamus i talamokortikalne projekcije do asocijacijskih područja moždane kore (<i>lobus frontalis</i>), prijenos podražaja od mezencefalona do limbičkog sustava (blokada)	<ul style="list-style-type: none"> - povećava oslobađanje DA u strijatumu i Nac - djeluje na učestalost izbijanja DA neurona i ponovni unos DA i porast bazalne aktivnosti DA neurona u SNC i VTA. 	<p><i>Fentanil 200 µg/kg:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - ne izaziva katalepsiju u štakora 	

TABLICA 27. (nastavak)

Prikaz mjesta djelovanja i interakcija ispitivanih i. v. anestetika i pentadekapeptida BPC 157

Lijek	Mjesto djelovanja	transmisija DOPAMINA	Bazalni učinci lijeka	Učinci BPC 157
Fentanil			<p><i>Fentanil 300 µg/kg:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - katalepsija se razvija 1-2 min nakon injekcije - katalepsija je popraćena Straubovim fenomenom - kumulativno trajanje katalepsije 22,23±3,56 <p><i>Fentanil 400 µg/kg:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - uvrtnje trupa, sa stražnjim šapama u abdukciji, uginuće nekolicine štakora 	<ul style="list-style-type: none"> - 10 ng/kg: kumulativno trajanje katalepsije 5,23±1,23 min - 10 µg/kg: kumulativno trajanje katalepsije 4,15±1,26 min <p>Antagonizira katalepsiju</p> <ul style="list-style-type: none"> - bez promjene

TABLICA 27. (nastavak)

Prikaz mjesta djelovanja i interakcija ispitivanih i. v. anestetika i pentadekapeptida BPC 157

Lijek	Mjesto djelovanja	transmisija DOPAMINA	Bazalni učinci lijeka	Učinci BPC 157
Dehidrobenzoperidol	Retikularna formacija i talamo-kortikalni projekcijski putovi. Djeluje u području jezgri talamusa i na limbički sustav (u područjima mozga u kojima postoje DA-ergičke, 5-HT-ergičke i NA-ergičke sinapse.	- oštećenje nigrostrijatalne transmisije DA	- kumulativno trajanje katalepsije: 60,45±2,25 min	- kumulativno trajanje katalepsije 0,00±0,00 antagonizira (slabi) katalepsiju
Talamonal	Mjesto djelovanja kao kod: fentanila + droperidol		-kumulativno trajanje katalepsije: 20,00±2,28 min	-kumulativno trajanje katalepsije: 0,00±0,00 antagonizira (slabi) katalepsiju

GRU – gubitak refleksa uspravljanja, DA – dopamin, NAc – akumbalna jezgra, VTA – ventralno talamičko područje, SNc – kompaktna crna tvar

Tako se čini, da multipli ionski kanali mogu doprinijeti kompleksno integriranom učinku propofola na kortikalne neurone i drugdje. Primarna senzorna kora je glavno mjesto djelovanja propofola (94), dok u n. accumbensu štakora on inhibira oslobađanje dopamina na način neovisan o D_2 , $GABA_A$ i NMDA receptorima, pa je moguće da propofol tu ne djeluje preko receptorskih mehanizama, nego blokadom ionskih kanala (95). Tretman s NOS inhibitorom L-NAME smanjio je potrebu za propofolom za 26% (96). Izostanak učinka pentadekapeptida BPC 157 na propofolsku anesteziju sugerira da je mehanizam djelovanja propofola mnogo kompleksniji nego se moglo pomisliti.

Kod tiopentala se pokazala potpuna funkcionalna simetrija u odgovoru na djelovanje pentadekapeptida BPC 157, ukazujući možda na izravnu interferenciju ispitivanih spojeva. Barbiturati pojačavaju $GABA_A$ ergičku transmisiju povećanjem vezanja $GABA$ za receptore i povećanjem osjetljivosti $GABA$ receptorskih kanala. Pri višim koncentracijama barbiturati potiskuju o kalciju ovisne akcijske potencijale, te smanjuju oslobađanje neurotransmitera ovisno o kalciju (97). Nadalje, oni produžuju funkcionalnu aktivnost kloridnih kanala smanjenjem disocijacije $GABA$ -e od njenog receptora (tzv. $GABA$ -mimetsko djelovanje) (98). Pentobarbital signifikantno smanjuje oslobađanje dopamina u n. accumbensu i inhibira ketaminom inducirano oslobađanje dopamina (99). Barbiturati blokiraju transmisiju ekscitatornih amino kiselina, ali su odgovori na AMPA i posebno, kainatskim receptorima mnogo dojmljiviji nego oni posredovani NMDA receptorima (100, 101). Intravenski anestetik tiopental smanjuje NOS aktivnost i razinu cGMP u mozgu (102, 103). Tretman s NOS inhibitorom L-NAME smanjio je potrebu za intravenskim anestetikom tiopentalom za 43 % (96). Barbiturati suprimiraju porast neuronalnog

cGMP stimuliran NMDA i kainatskim receptorima (104) s tim da tiopental ima izravno djelovanje na guanilil ciklazu (103).

Antagonisti GABA_A receptora ne antagoniziraju *in vivo* anesteziju izazvanu pentobarbitalom i propofolom (4), što sugerira da potenciranje GABA_A transmisije nije glavni čimbenik u nastanku anestezije ovim spojevima. Moguće je da potenciranje GABA_A transmisije ima učinak pojačanja opće anestezije dok primarni mehanizam anestezije uključuje drugo mjesto. Stoga, potencijacija funkcije GABA_A receptora nije apsolutni zahtjev za nastanak anestezije. Anestezija pentobarbitalom može uključiti dodatne mehanizme, u skladu s preklapanjem mehanizama talamokortikalne inhibicije (105). S obzirom na redundantnost sustava, tako važna funkcija kao što je svijest vjerojatno je kontrolirana od više neurotransmiterskih sustava.

Općenito, uzimajući u obzir djelovanje općih anestetika (87) i antagonizam opće anestezije (7-13), pokazan za pentadekapeptid BPC 157 (kao antagonizam različitih posljedica sustavnih poremećaja GABA-e (73), dopamina (66-68) i serotonina (70, 71), antikonvulzivna aktivnost (73) zajedno s antagonizacijom lezija induciranih primjenom etanola (62, 63) te suprotstavljanjem akutnoj i kroničnoj intoksikaciji etanolom (60, 61), bez promjena u ponašanju kada se daje sam (60, 61, 68, 75, 77) i bez izvještaja o toksičnosti (106-108), daje osnovu za antagonistički učinak različit od standardnih spojeva koji antagoniziraju učinke općih anestetika spomenutih ranije (7-13). Zajedno, ovi podaci (60-63, 69-71, 73, 75, 77) (npr., kada se primjeni periferno, BPC 157 ima regionalno-specifičan utjecaj na sintezu 5-HT u mozgu štakora, koja je značajno povećana u SN (kompakta i retikulata) (69) daju osnovu za ispitivanje učinaka BPC 157 na ispitivane i. v. anestetike u štakora.

Pentadekapeptid BPC 157 antagonizira opću anestetsku potenciju tiopentala, ali ne antagonizira propofol i ketamin. Stoga, potenciju BPC 157 u antagonizaciji djelovanja općih anestetika, koja se odnosi na antagonizaciju učinaka tiopentala, treba promatrati u odnosu na opće poznato potencirajuće djelovanje GABA-e na GABA_A receptorima zajedničko za barbiturate (87, 109) i propofol (87, 109), pošto je pozitivna modulacija glicinskih receptora manje osjetljiva na barbiturate (87, 109) i propofol (87, 109), inhibiciju NMDA receptora ketaminom (87) i konačno, sa GABA_A receptorima koji vjerojatno ispoljavaju specifična vezna mjesta za različite vrste anestetika (109). Zato je moguće, da BPC 157 koji ne antagonizira opće anestetsko djelovanje ketamina, može promptno antagonizirati opći anestetski učinak tiopentala, ali ne i učinak propofola. Činjenica da BPC 157 očigledno nije GABA mimetik koji izaziva gubitak svijesti (110) ukazuje da antagonizacija općeg anestetskog učinka tiopentala može biti posljedica njegove posebne uloge na GABA_A receptorima u posredovanju hipnotskih učinaka općih anestetika. S druge strane, samo tiopental, za razliku od propofola inducira "anaesteziji-slično" stanje u moždanom deblu štakora, " mezopontinom tegmentalom anestetskom području" otkrivenom nedavno kao regiji osjetljivoj na anestetike (111). Flumazenil potencira hipnotsku aktivnost propofola, ali ne potencira hipnotsku aktivnost tiopentala (112). Zabilježeni su različiti učinci propofola, ketamina i tiopentala na mikrocirkulaciju, a disfunkcionalni kontrolni mehanizmi na razini mikrocirkulacije mogu također mijenjati odgovore na anestetike (113). Učinak tiopentala na relaksaciju arterija, za razliku od propofola ovisan je o endotelu i može biti inhibiran NOS inhibitorom L-NAME, (114) što može vjerojatno biti važno u prikazivanju učinaka BPC 157 na NO sustav (57).

Različiti nalazi govore za multifaktorijski učinak ketamina na neurotransmitere. Ketamin je potentni nekompetitivni antagonist NMDA receptora. NMDA inhibicija dovodi do katalepsije, u skladu s učinkom ketamina. Sugerirano je da bi to mogao biti mehanizam anestetskog učinka i ponašanja kod ketamina. Obrt acetilkolina u nucleus caudatusu i hipokampusu štakora je smanjen, a glutamatom posredovana sprovodljivost na receptorskoj razini inhibirana (115). O sudjelovanju opioidnih receptora zaključuje se na osnovu ispitivanja vezivanja (116) i djelomičnog antagonizma djelovanja ketamina naloksonom. Ketamin modulira djelovanje GABA na GABA receptorima, ali sam nema djelovanje na tim receptorima (117). Tretman s NOS inhibitorom L-NAME smanjuje potrebu za intravenskim anestetikom ketaminom za 63 % (96). U NOS-deficijentnih miševa primjena L-NAME ne mijenja MAK vrijednost isoflurana, ali ketamin smanjuje MAK isoflurana, ukazujući da ketamin djeluje na receptore različite od NMDA receptora, ili da NMDA receptori posreduju njegove intracelularne učinke preko putova neovisnih o oslobađanju NO (118). Facilitatorna regulacija otpuštanja dopamina barem je dijelom posredovana NMDA receptorima lociranim u DAergičkim živčanim ograncima u strijatumu. Naime, aktivacija NMDA receptora dovodi do aktivacije neuronalne NOS i povećanja tvorbe NO, koji regulira otpuštanje dopamina (119). Ketamin inducira stereotipno ponašanje, što je zajedničko svojstvo psihomotornih stimulansa amfetaminskog tipa (115). Interakcije ketamina s dopaminergičkim sustavom mozga su kompleksne i u nekim slučajevima kontradiktorne. Tako, ketamin ne modulira nigrostrijatalnu dopaminsku funkciju (120), dok je obrt dopamina u strijatumu nepromijenjen (121) ili snižen (120). Suprotno, ketamin povećava učestalost okidanja dopaminskih neurona ventralnog

tegmentuma (120) i inducira hiperlokomociju u miševa (122). Ketamin značajno povećava oslobađanje dopamina u n. accumbensu (NAc) štakora (123, 124), odnosno inducira disfunkciju mezolimbickih i mezokortikalnih dopaminskih neurona.

Općenito, opijati smanjuju spontanu pokretljivost i izazivaju rigidnost mišića i katalepsiju (125). Već davno je utvrđeno kod katalepsije i stereotipije izazvane narkoticima u štakora, da morfin, kodein i fentanil, za razliku od pentazocina, inhibiraju aktivnost ovisno o središnjoj dopaminergičkoj funkciji u štakora. Misli se da bi mehanizam ovog djelovanja većinom bio neizravan i u vezi s presinaptičkom dopaminergičkom funkcijom (126). Važno je zapaziti, da je kataleptogeni učinak fentanila i droperidola usporediv, ali prekursor dopamina L-dopa, mada davan u visokim dozama, nije mogao antagonizirati katalepsiju izazvanu fentanilom (127). Fentanil, agonist μ receptora inducira katalepsiju u miševa (128), koja je definirana smanjenom sposobnošću započinjanja pokreta i nesposobnošću ispravljanja položaja koji je karakteriziran mišićnom rigidnošću i akinezijom. Egzogeni opiodi mogu utjecati na aktivnost mezolimbickih DAergičkih neurona, a taj učinak je u podlozi lokomotornih učinaka (129, 130) tih spojeva. Piepponen i sur., (1999) jasno pokazuju da su uz mezolimbicki dopaminergički sustav, μ receptori također uključeni u kontrolu nigrostrijatalnog otpuštanja i metabolizma dopamina (131). Za djelovanje fentanila, uz uplitanje u otpuštanje, prihvata i metabolizam dopamina, odgovoran je i njegov učinak na dopaminergičku i glutamatergičku neurotransmisiju u područjima porijekla (SN i VTA) i terminalnim (NAc i nucleus caudatus) područjima mezolimbickog i nigrostrijatalnog dopaminergičkog sustava. Istodobnim djelovanjem fentanila na DAergičke neurone SNc i VTA dolazi do poremetnje veza mezokortikalnih i drugih dopaminskih neurona koji projiciraju u NAc, što stvara

neravnotežu u funkcioniranju izlaznih akumbalnih putova. Mehanizam kojim BPC 157 ispoljava inhibitorni učinak na katalepsiju induciranu fentanilom u vezi je s aktivacijom dopaminergičke transmisije. U ranijim radovima je utvrđeno da NO povećava oslobađanje dopamina u strijatumu (132, 133) i kontrolira aktivnost dopaminergičkih neurona u strijatumu (134), povećava njihovu aktivnost (134, 135) i inhibira kotransporter dopamina (136). Erkent i sur., (2006) (137) su pokazali da L-arginin antagonizira potencirajući učinak inhibitora NOS na fentanilom induciranu katalepsiju, što ukazuje na modulatornu ulogu NO u nastanku te katalepsije. Nalokson, antagonist μ opioidnih receptora, također inhibira katalepsiju u miševa tretiranih fentanilom samim i kombinacijom fentanila i 7-NI (137). Ti rezultati ukazuju na zajednički mehanizam μ receptora i NO sustava u razvoju fentanilom inducirane katalepsije.

Poznato je da dehidrobenzperidol (droperidol) djeluje u središnjem živčanom sustavu samo u onim područjima mozga u kojima postoje dopaminergičke, noradrenergičke i serotoninergičke sinapse (138). Neurolepticima inducirana katalepsija, ponašanje u vezi s oštećenjem nigrostrijatalne DA transmisije, oslabljena je s pentadekapeptidom BPC 157. Narkevich i sur., (2005) su pokazali da se u uvjetima neuroleptičke katalepsije smanjuje sadržaj NO u kori mozga (139). Injekcija droperidola inhibira aktivnost NOS, što ukazuje na vezu NO-ergičkog i nigrostrijatalnog dopaminergičkog sustava. Djelovanjem NO povećava se oslobađanje dopamina u strijatumu štakora (140, 133), koje je smanjeno je nakon inhibicije NOS (141). Penatekapeptid BPC 157 bi modulacijom strijatalnog otpuštanje serotoninina, glutamata i GABA-e, mogao modulirati motorno ponašanje i biti ključni učesnik procesa u nigrostrijatalnom sustavu. Potencijacija katalepsije

inducirane sa fentanilom i haloperidolom sa NOS inhibitorima (120, 142), može se objasniti smanjenim otpuštanjem dopamina. Međutim, doprinos NO u indukciji kataleptičkog djelovanja ovim spojevima razlikuje se u veličini. U slučaju neuroleptika dehidrobenzperidola, koji zauzima postsinaptičke receptore, BPC 157 umjereno nadjačava kataleptičko djelovanje povećanjem otpuštanja dopamina. Kako se kod fentanilom inducirane katalepsije radi o zauzetosti presinaptičkih dopaminskih receptora, djelovanjem BPC 157, kataleptičko djelovanje fentanila može biti inhibirano u većem opsegu (137).

Interesantno, pentadekapeptid BPC 157, za koji studije vezanja nisu pokazale nikakvo vezanje za dopaminske receptore i koji nema utjecaj na ponašanje normalnih životinja, može blokirati stereotipiju izazvanu dopaminskim agonistom, amfetaminom (75). BPC 157 također blokira pojačani učinak amfetamina nakon primjene haloperidola (npr., ponašanje uspinjanja) u miševa (75). Kako se općenito smatra da je pojačano ponašanje uspinjanja inducirano amfetaminom odgođeni rezultat up-regulacije strijatalnih dopaminskih receptora nakon aplikacije haloperidola i blokade dopaminskih receptora (143), ovo djelovanje daje osnovu za tvrdnju da BPC 157 djeluje i na druge bliske posljedice blokade dopaminskih receptora, kao što su katalepsija, inducirana haloperidolom ili flufenazinom i somatosenzorna dizorijentacija inducirana klopazinom ili sulpiridom (77). Također je pokazano da pentadekapeptid BPC 157 može popraviti motorne poremećaje izazvane metabolitom meperidina, neurotoksinom 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridinom (MPTP), neurotoksinom koji zahvaća nigrostrijatalni dopaminski sustav (144), ili rezerpinom, depletorom dopaminergičkih intraneuronskih granula (144).

Općenito, s obzirom na katalepsiju induciranu fentanilom i droperidolom, primijenjenih samih ili u kombinaciji, izgleda da antagonistički učinak BPC 157 može biti vjerojatna posljedica ranijih dokaza, o posebnoj antagonizaciji različitih poremećaja dopaminskog (66-68) i serotoniniskog (70, 71) sustava. Naime, kako droperidol znatno nadmašuje učinke haloperidola (127), važno je istaknuti da antagonizacija katalepsije, inducirane haloperidolom ili flufenazinom kao i somatosenzorne dizorijentacije, izazvane klopazinom ili sulpiridom (77) može biti prikladno proširena. Uz to, primjenjen periferno u akutnom ili kroničnom pokusu, BPC 157 specifično utječe na sintezu 5-HT u mozgu štakora (npr., dorzalni talamus, hipokampus, lateralno genikulatno tjelašće, hipotalamus, dorzalne jezgre rafe, substantia nigra, medijalna prednja olfaktorna jezgra, lateralni caudatus, akumbalna jezgra, gornja oliva). Ovi dokazi, uz dodatak o sudjelovanju serotoninina u djelovanju analgetika (145) daju osnovu učinku BPC 157 u antagonizmu katalepsije. Naime, povećana potencija fentanila (u odnosu na morfin) posljedica je brze penetracije kroz krvno-moždanu barijeru, brzi početak djelovanja i stoga, mnogo većeg učinka na strijatalni dopaminski sustav bilo presinaptičkim djelovanjem (kao morfin) ili blokadom postsinaptičkih receptora (127). Učinak na strukturu SN (povećava sintezu 5-HT akutno i kronično (69) i ublažavanje motornih poremećaja (tremora, akinezije, katalepsije) te sprječavanje letalnog ishoda izazvanog neurotoksinom MPTP, metabolitom meperidina koji izaziva oštećenja stanica SN slobodnim radikalima) (68), mogu biti također odgovorni za antagonizaciju katalepsije izazvanu fentanilom ili droperidolom, primjenjenih samih ili u kombinaciji. Podržavajući značaj antagonizacije učinka fentanila i droperidola primjenjenih samih s pentadekapeptidom BPC 157, fentanil i droperidol u kombinaciji ostvaruju

potencirajući učinak koje može biti također (ovisno o dozi) oslabljen djelovanjem BPC 157. Uz to, kako su ispitivanja etanola i morfina pokazala značajna preklapanja u ponašanju (146), važno je napomenuti da je utvrđeno da BPC 157 djeluje kao antagonist etanola, te time osigurava koristan učinak kod inače suprotnih poremećaja izazvanih akutnim i kroničnim poremećajima izazvanim etanolom (60, 61).

5.2. NO/cGMP sustav prijenosa signala: središnja točka djelovanja anestetika?

Kao neurotransmiter, NO sudjeluje u nocicepciji i održanju svjesnosti (147, 148, 149). Patofiziologija niza stanja, koja idu s ograničenjem svjesnosti, npr. toplinski udar, cerebralna malarija, intoksikacija alkoholom i sedacija izazvana opioidima, posljedica su manjka dušikovog monoksida (NO) (149, 150, 151). Osim ovog djelovanja u mozgu, NO je također važan transmiter u kralješničnoj moždini. Pojačana aktivnost neuronalnog oblika NO-sintaze (NOS) mogla se dokazati između ostalog u malom mozgu, hipotalamusu i međumozgu, te slabija aktivnosti u strijatumu, hipokampusu i moždanoj kori (152, 153). NOS se nalazi u regijama mozga, koje sudjeluju u upravljanju ritmom budnosti i sna (153). Pošto anestetici utječu na stanje svijesti, izgleda da anestetici i NO djeluju u istim područjima mozga.

Prvi dokaz, da interakcija anestetika s NO/cGMP putem nije od značaja samo za kardiovaskularni sustav, nego također u posredovanju sedativno-hipnotskih učinaka anestetika, pružili su Johns i sur., (1992) (149). Na štakorima, kojima su aplicirali L-NAME, mogli su dokazati o dozi ovisnu reverzibilnu redukciju minimalne alveolarne koncentracije (MAK) halotana. Drugi, u međuvremenu objavljeni rezultati, poduprli su inicijalnu hipotezu, da je učinak anestetika pojačan inhibicijom NO/cGMP metabolizma (118, 154, 155). Hlapljivi, ali i intravenski anestetici, osim njihovog poznatog djelovanja na druge stanične komunikacijske sustave, mogu stupiti u reakciju s pojedinim komponentama NO/cGMP transmisijnog puta. Pri tomu su ustanovljene različite razine te interakcije. Anestetici

mogu inhibirati funkciju receptora, koji kao npr. NMDA receptori, ostvaruju svoj učinak posredovanjem NO/cGMP metabolizma (156, 157, 104). Nadalje, u prisustvu anestetika mogu se promijeniti funkcija NOS, guanilil ciklaze kao i niže postavljених efektorskih mehanizama. Tako su opisani smanjenje poluvremena NO, interakcije s oslobađanjem ili funkcijom NO kao i interakcije s guanilil ciklazom ili fosfodiesterazama (103, 147, 158).

Mada se ranije mislilo, da i. v. anestetici imaju slab učinak na metabolizam NO/cGMP-a, novija istraživanja su pokazala drukčije rezultate. Utvrdilo se, da oni inhibicijom NOS mogu smanjiti o endotelu ovisnu relaksaciju krvnih žila. Tiopental, etomidat, ketamin i midazolam izazivaju smanjenje aktivnosti neuronalne NOS (102). Pokusima, u kojima su režnjevi malog mozga tretirani s NMDA, aspartatom ili natrijevim nitroprusidom, Terasako i sur., su pokazali, da su ispitivani anestetici, halotan, isofluran i tiopental doveli do smanjenja porasta cGMP u malom mozgu nakon primjene NMDA, ali s različitim napadnim točkama djelovanja (103). Tonner i sur., su pokazali, da je djelovanje i.v. anestetika tiopentala, propofola, ketamina i etomidata potencirano primjenom L-NAME (155, 159). Ketamin, nekompetitivni inhibitor ekscitatornih NMDA receptora, smanjuje povećanu aktivnost NOS nakon stimulacije NMDA i non-NMDA receptora (103). Na osnovu ovih nalaza spekuliralo se, da je smanjenje intracerebralne koncentracije cGMP blokadom NMDA receptora odgovorno za anesteziju izazvanu ketaminom (160). Ta sumnja je podržana *in vivo* učinkom inhibitora NOS na povećanje anestetskog učinka ketamina, koji je bio veći (63%), nego kod drugih klinički primjenjivanih i. v. anestetika (155). Barbiturati, slično hlapljivim anestheticima, potiskuju porast koncentracije cGMP nakon stimulacije NMDA- i kainatskih receptora (104). Barbiturat tiopental suprotno od

hlapljivih anestetika u kliničkim koncentracijama neznatno reagira s NMDA receptorima i NOS. Nakon stimulacije guanilil ciklaze s natrijevim nitroprusidom, donorom NO, koji može osloboditi NO neovisno o NOS, došlo je nakon davanja tiopentala do smanjenja produkcije cGMP. Za razliku od hlapljivih anestetika, koji ne inhibiraju aktivnost guanilil ciklaze u moždanom tkivu, izgleda da je taj enzim ključno mjesto djelovanja tiopentala (103, 160). Mehanizam interakcije propofola s NO/cGMP metabolizmom za sada još nije jasan. Uz ekscitatorne transmitterske sustave, NMDA- i središnje muskarinergičke acetilkolinske receptore i inhibitorni stanični komunikacijski sustavi, npr. GABA-receptori i α_2 -adrenoceptori, u vezi su s djelovanjem NO-a (161, 162, 163, 164). Stoga se može pretpostaviti, da je metabolizam NO/cGMP na kompleksan način povezan s mnoštvom sustava transmisije i transdukcije signala, na koje mogu djelovati i. v. anestetici i tako dovesti do pojačanja hipnotsko-anestetskog učinka.

Metabolizam NO je usko povezan s cGMP, koji igra važnu ulogu kao neuronalna glasnička molekula. Za razne anestetike su opisane interakcije s receptorima i drugim strukturama koje su vezane sa staničnom membranom. Putem različitih mehanizama NO stoji u kontaktu s tim strukturama. Utjecaj ovog glasničkog sustava ispoljava se značajno na stanje aktivnosti u SŽS-u i dovodi tako do povećanja ED₅₀ različitih anestetika. Stoga se čini da utjecaj na metabolizam NO-a igra važnu ulogu u metabolizmu SŽS-a. Aktivacija NMDA-receptora i acetilkolinskih receptora dovodi do NO-posredovane produkcije cGMP u stanicama (161). Tako, aktivacija NMDA receptora agonistom receptora glutamatom, dovodi do povećanja koncentracije NO oko 300% (162), koju prati porast koncentracija cGMP-a također za 300%. Za GABA-receptore je poznato da su raspoređeni u

područjima SŽS-a, u kojima se nalazi velika koncentracija NOS (167, 168). Na taj su način izlučivanje GABA-e (169) i funkcija receptora modulirani putem NO-cGMP sustava (170). Barbiturati npr. djeluju na GABA-receptore stimulirajuće, dakle inhibiraju priključene neurone. NO djeluje putem cGMP deaktivirajuće na GABA receptore, dakle smanjenje NO i cGMP ima GABA-sinergistički učinak.

Brojni dokazi upućuju na činjenicu, da supstance koje izazivaju centralnu podražljivost, povećavaju koncentraciju cGMP u mozgu, dok one koje izazivaju sedaciju doprinose smanjenju sadržaja cGMP-a u mozgu. I. v. anestetici, slično hlapljivim anestheticima, dovode do smanjenja koncentracije cGMP u različitim tkivima. Ranije je dokazano, da anestetici dovode do smanjenja koncentracije cGMP u tkivu malog mozga *in vivo* (171, 172, 173).

Mogući su i ekscitatorni učinci preko NO/cGMP regulatornog kruga. Pretjerana stimulacija NO/cGMP sustava, npr. inhibicijom razgradnje cGMP-a inhibitorima fosfodiesteraze, može izazvati prepunjenost stanica sa kalcijem, što može dovesti do ekscitatornih reakcija i konvulzija (103, 174, 175). Tonner i sur., su pokazali, da je anestetski učinak tiopentala bio značajno smanjen s visokom koncentracijom inhibitora fosfodiesteraze teofilina, putem inhibicije razgradnje cGMP-a (176).

cGMP nije jedini glasnik drugog reda koji sudjeluje u održavanju svjesnog stanja. Mada su se kratko nakon primjene specifičnog inhibitora NOS 7-NI, smanjile MAK vrijednost za sevofluran i koncentracija cGMP u malom mozgu miševa, kod dugotrajnog tretmana vratila se vrijednost MAK-a za sevofluran na početnu vrijednost, dok je razina količine cGMP ostala smanjena (177). Mada NO/cGMP put transmisije predstavlja moguće napadno mjesto anestetika, oni moraju djelovati i na

druge mehanizme prijenosa impulsa, da bi se u potpunosti ostvario njihov hipnotsko-anestetski učinak. U odsustvu drugih anestetski učinkovitih tvari, L-NAME nije mogao sam izazvati promjenu ponašanja pokusnih životinja (155). Tzv. nNOS-knockout-miševi, koji ne pokazuju aktivnost neuronalne NOS, ne pokazuju razliku u ponašanju prema divljem tipu miševa (118). Divlji tip miševa, kojima je apliciran L-NAME, pokazao je smanjenje MAK-a za isofluran, dok primjena L-NAME kod knockout-miševa nije dovela do smanjenja MAK vrijednosti za isofluran (118). Nakon davanja ketamina nNOS-knockout-miševima došlo je do smanjenja MAK vrijednosti za isofluran. Dakle, pored NO/cGMP puta postoje i druga mjesta djelovanja NMDA-antagonista ketamina, preko kojih je posredovan njegov anestetski učinak.

Nakon kronične primjene inhibitora NOS, NO/cGMP sustav gubi značaj za djelovanje anestetika. Mada je kod štakora, koji su primali inhibitore NOS kroz više dana, bila snižena aktivnost NOS, kao i koncentracija cGMP-a, MAK vrijednosti hlapljivih anestetika ostale su nepromijenjene (177, 178). Ovi nalazi podupiru tezu, da SŽS raspolaže s kompenzatornim mehanizmima kod dužeg ispada ovog signalnog puta (179, 118). Akutnom primjenom inhibitora NOS mogla se poremetiti ravnoteža neurotransmitera, kao što se pokazalo u pokusima *in vivo* pojačanjem djelovanja hlapljivih i intravenskih anestetika. NO-sustav predstavlja kratkoročno modulirajući sustav, čiju funkciju dugoročno preuzimaju drugi glasnički sustavi. NO/cGMP-sustav služi samo za kratkoročni prijenos signala, koji modulira promjene u metabolizmu nastale unutar nekoliko sati. Blokada ovog sustava analogima NOS ili genetskim isključivanjem enzimске aktivnosti NOS, nije u stanju promijeniti budnost

ispitivane životinje. Tek dodatkom anestetika uočava se značaj NOS za budnost ispitivanih životinja.

5.3. Mogući mehanizam djelovanja pentadekapeptida BPC 157 - opća uloga u ranoj senzornoj obradi

Global workspace (GW) teorija predviđa da su informacijski sadržaji svjesnosti široko distribuirani u mozgu (180). Svjesni podražaji mobiliziraju velika područja kore, vjerojatno da bi proširili informaciju o podražaju. Svjesnost služi da mobilizira mnoge specijalizirane mreže, radi ojačanja specifičnih funkcija potrebnih za izvršenje ovih zadataka. GW teorija ukazuje da svjesnost omogućuje kooperaciju i takmičenje multiplih mreža u rješavanju problema. Općenita funkcija svjesnosti osiguranje je širokog pristupa, što povratno može služiti funkcioniranju koordinacije i kontrole. Svjesnost je ulaz u mozak, koja tako omogućuje kontrolu osim pojedinih neurona i cijele populacije neurona.

Jedna od najvažnijih funkcija živčanog sustava je da ispita vanjski okoliš i kontrolira pokrete tijela u njemu. I stvarno, sposobnost životinja da prikupe informacije o svijetu i prikladno odgovore presudna je za njihovo preživljavanje. To zahtijeva da se razni senzorni podaci povezani s objektima ili zbivanjima u okolišu prvo registriraju i obrade u mozgu. Senzorne informacije se trebaju prevesti u motorne zapovijedi koje kontroliraju pokrete očiju, glave i tijela. Istovremeno, radi povezivanja senzornih signala i trigeriranja pokreta, potrebno je sučelje između senzorne i motorne obrade u mozgu. Brojne regije

mozga sadrže neurone koji ispoljavaju oba, senzorna i motorna svojstva. Unutar tih moždanih struktura signali iz različitih osjetila (multisenzorna obrada) su kanalizirani i korišteni u predvođenju adaptiranog motornog odgovora.

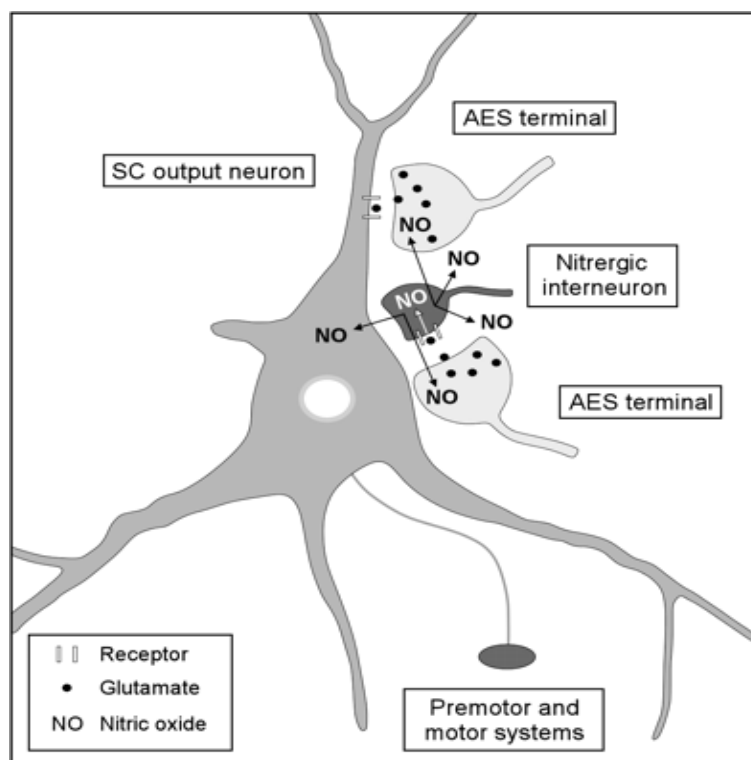
Neuroanatomska ispitivanja potvrđuju da je NO/cGMP signalizacija uključena u različite osjete: vid, njuh, okus, sluh i taktilni osjet. Po hipotezi Otta i Burrowsa (1998) (181), NO oslobođen lokalno unutar senzornih mapa povezuje senzorne informacijske kanale koji prepoznaju slična svojstva podražaja. Ideja je da lokalni gradijent NO djeluje kao korelator lokalne aktivnosti unutar živčanih mapa i omogućuje NO signalizaciju u senzornim sustavima (182). Snažnija aktivacija receptora i veći broj aktivnih receptora rezultira u većoj sintezi NO i posljedično širem povezivanju mreže. Jednostavno o aktivnosti ovisno lokalno otpuštanje NO može tako omogućiti plastičnost u obradi informacija. Dakle, ispitivanja ukazuju na opću ulogu NO/cGMP signalizacije u ranoj senzornoj obradi.

Pentadekapeptid BPC 157 djelujući primarno putem NO/cGMP sustava, može posredovati adaptaciju ili senzibilizaciju u živčanim mrežama. Pošto senzorni i motorni neuroni sadrže funkcionalnu sGC (183), BPC 157 bi bio u prilici modulirati oboje, input iz senzornih neurona i output motornih neurona. Pentadekapeptid BPC 157 je vjerojatno na specifičan način uključen u mehanizam nadzora nad moždanom aktivnošću, djelujući na otpuštanje aktivacijskih ili inhibicijskih neurotransmiterskih hormonskih tvari u moždano tkivo. Može se pretpostaviti da BPC 157 preko NO/cGMP sustava djeluje u gotovo svim područjima mozga. Djelujući na razne strukture mozga uključen je u protok informacija i senzorno-motorno ponašanje. BPC 157 dovodi do

povećane raspoloživosti neurotransmitera, snižavanja praga ekscitacije i time povećane osjetljivosti te doprinosi povećanom izbijanju neurona, što se vjerojatno odvija preko mehanizama pozornosti u jezgrama moždanog debla. Neurotransmiteri se pri tome transportiraju u selektirane moždane krugove, što se može zapaziti iz načina na koji BPC 157 ispravlja poremećaje izazvane različitim anestheticima. Naime, pentadekapeptid BPC 157 ispravlja poremećaje izazvane djelovanjem anestetika koristeći putove selektirane njihovim djelovanjem. Pri tome, vrlo je važna interakcija BPC 157 s drugim neurotransmitterskim sustavima u specifičnim moždanim strukturama koje učestvuju u integraciji multimodalnih senzornih i motornih informacija u mozgu.

Ispitivanjima na štakorima potvrđeno je da akutna izloženost BPC 157 mijenja razinu 5-HT u mozgu. Naime, nakon akutne primjene BPC 157, sinteza serotonina signifikantno je povišena u SNr i olfaktornoj jezgri, te u drugim senzornim strukturama mozga (gornjoj olivi, gornjim kolikulima i čeonj kori) (69), tj. na strateškim mjestima obrade vizualnih, olfaktornih i slušnih podražaja, inače vrlo potentnih u indukciji lokomocije. Sposobnost neurona senzornih struktura mozga u integriranju informacija iz različitih osjetila ovisi o izravnim projekcijama iz regija kore mozga. Tako je poznato, da gornji kolikul (superior colliculus, SC) ima jednu od najvećih koncentracija NO u mozgu (184). Fuentes-Santamaria V i sur., (2007) (185) su našli da su nitrergički interneuroni SC cilj projekcija iz kore, koji tako tvore komponentu kortiko-SC krugova (slika 2). Nitrergički interneuroni su pozicionirani tako da sprovode utjecaje iz kore do izlaznih neurona disinaptički preko nitrergičkog mehanizma

kao i preko konvencionalnih neurotransmitterskih sustava koristeći GABA-u i druge, vjerojatno ekscitatorne neurotransmitere.



SLIKA 2.

Shematska ilustracija koja pokazuje moguću ulogu nitrergičkih interneurona u kortiko-SC krugu. Kortikalno posredovano otpuštanje NO iz postsinaptičkih elemenata nitrergičkih interneurona može utjecati na presinaptičke kortiko-SC ogranke koji izravno kontaktiraju izlazne neurone (185).

Sposobnost BPC 157 da promijeni razinu 5-HT u raznim senzornim strukturama (69), može značiti da je ovaj peptid u stanju poboljšati sposobnost neurona tih struktura u integraciji informacija pristiglih iz različitih osjetila. 5-HT djeluje na različitim razinama krugova, koji stvaraju ili moduliraju motorni obrazac ponašanja (186). 5-HT-om posredovana neurotransmisija ne mora biti

bitna za započinjanje lokomocije ako su ekscitatorne amino kiseline glavni medijatori. Međutim, u uvjetima izostanka transmisije ekscitatornih amino kiselina, mogući su paralelni putovi aktivacije koji koriste druge transmitere.

Upadljivo, brojni neurotransmiteri koji su obično udruženi s pobuđenošću u ponašanju i povećanim motornim odgovorom, serotonin i noradrenalin, ciljaju na ionske kanale sa sličnim svojstvima u motornim neuronima, ali s učincima suprotnim anestheticima (187, 188, 189). Tako postoji mogućnost da anestetici i neurotransmiteri konvergiraju na iste propuštajuće K^+ kanale i I_h kanale, ali sa suprotnim djelovanjem. Povećana razina aminergičkih (ili peptidergičkih) neurotransmitera koji su uobičajeno povezani s pobuđenošću u ponašanju i povećanom motornom aktivnošću (npr. 5-HT, NA i TRH) mogu nadjačati učinak anestetika (187). Mogućnost zajedničke modulacije anestheticima i neuromodulatorima K^+ struje propuštanja i I_h kanala prikazane za motorne neurone, može postojati također i za talamokortikalne neurone, i u tom pogledu doprinositi promijenjenoj svijesti i osjetu u anesteziji (187).

5.4. Uloga pentadekapeptida BPC 157 u motornom ponašanju

Djelovanje anestetika izaziva disfunkciju unutar kortikostrijatalnih signalnih putova koji su ovisni o NO, a to može poremetiti rad strijatonigralnih krugova uključenih u regulaciju DA transmisije. Taj poremećaj DAergičke transmisije, povratno, mijenja obradu senzorno-motornih informacija u projekcijskim neuronima i rezultira u neprikladnoj selekciji ili inaktivaciji

strijatalnih izlaznih krugova uključenih u koordinaciju aktivnosti neurona premotornih područja moždanog debla i talamusa. Međutim, pentadekapeptid BPC 157 bi mogao igrati presudnu ulogu u integraciji kortikostrijatalnih senzorno-motornih informacija unutar strijatalne mreže uključene u regulaciju motornog ponašanja. Učincima na podražljivost neurona u različitim regijama mozga i kralježnične moždine, bio bi u strateškoj poziciji da koordinira kompleksni senzorni i motorni obrazac za vrijeme različitih stanja ponašanja. Naime, izgleda da BPC 157 djeluje antagonistički kod anestetika koji blokiraju nigrostrijatalnu transmisiju, ili potencira ekscitatorne učinke anestetika koji djeluju na mezoakumbalnu ili mezokortikalno-limbičku DA transmisiju.

Vincent i Kimura (1992) su pokazali da NOS nije prisutna samo u terminalnim DA područjima npr. strijatumu i NAc, nego također na mjestima porijekla DA stanica u SNr i VTA (184). NOS pozitivni interneuroni predstavljaju 1-2% strijatalnih neurona. Oni imaju malo dendritičkih grana, ali imaju opsežnu aksonalnu arborizaciju koja oblikuje široko polje. Strijatalni NOS/NADPH-d pozitivni neuroni sadrže više identificiranih transmitera i kontransmitera nego druge vrste strijatalnih neurona. Trnasti neuroni (MSN) su projekcijski neuroni, i predstavljaju 95% ukupnog broja populacije neurona u strijatumu. Na njihovu funkciju snažno utječe razina dopaminergičke aktivnosti (184, 190, 134). Elektrofiziološkim ispitivanjima prikupljeni su dokazi da je NO važan modulator aktivnosti strijatalnih neurona, a ta je modulacija vjerojatno posredovana kompleksnom interakcijom koja uključuje aktivaciju GC i pojačanje GLUergičke i DAergičke neurotransmisije (134, 191). Mada nije u potpunosti karakterizirana interakcija NOS interneurona i MSN-a i njihovih

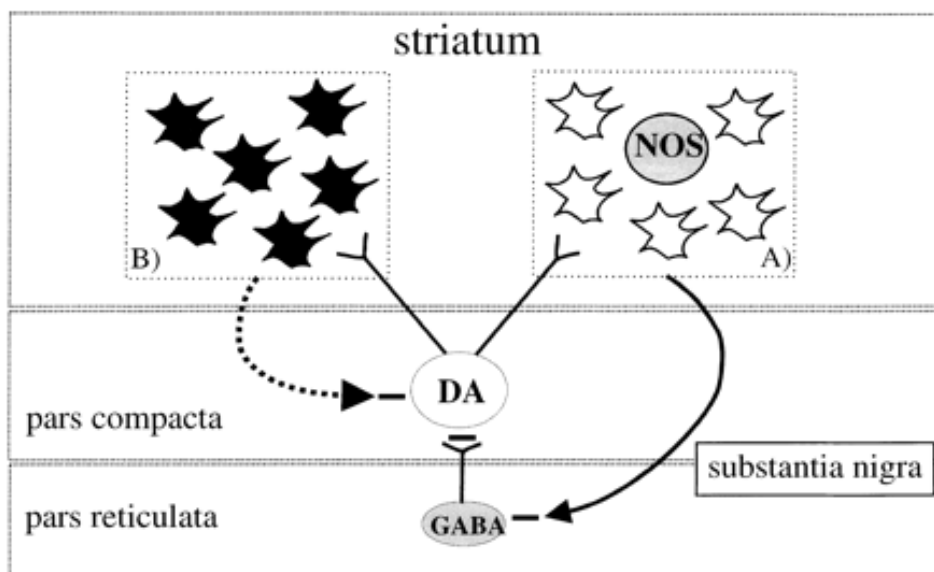
odgovarajućih kortikostrijatalnih i nigrostrijetalnih aferenci, izgleda da su ovi krugovi presudno uključeni u formiranje motornog odgovora.

Ultrastrukturalna ispitivanja strijetalnih interneurona koji sadrže NOS pokazala su da ogranci koji sadrže NOS stvaraju sinapse na dendritičkim spinama strijetalnih neurona (MSN). Uz to, bliskost ovih nitergičkih unosa s dopaminergičkim i glutamatergičkim sinapsama MSN (192) ukazuje da NO transmisija može igrati važnu ulogu u modulaciji odgovora MSN na aferentni unos (193). To podržavaju nedavna elektrofiziološka ispitivanja koja su pokazala da NO/sGC signalizacija modulira kortikostrijetalnu sinaptičku plastičnost *in vitro* (194, 195, 196) i glutamatom induciranu ekscitaciju *in vivo* (197, 198). Stvaranje NO, nakon aktivacije kortikostrijetalnih putova, također je presudno uključeno u posredovanje elektrotoničkog povezivanja MSN (191). Nedavna ispitivanja koja su pokazala da strijetalni NO regulira odgovore dopaminskih (DA) neurona međumozga na električnu stimulaciju strijetuma i prefrontalne kore (PFC), također ukazuju da NO signalizacija igra važnu ulogu u integraciji informacija koje se prenose do izlaznih središta bazalnih ganglija preko kortikostrijetalnih i strijetalnih eferentnih putova (191).

West i Grace (2004) (198) su pokazali da strijetalna produkcija NO modulira svojstva membrane strijetalnih MSN u "up i down stanju" preko aktivacije puta GC. Uloga NO/sGC signalizacije u modulaciji aktivnosti membrane MSN podržana je ultrastrukturalnim studijama koje su pokazale da NOS-imunoreaktivni nastavci primarno formiraju sinaptičke kontakte na dendritičkim nastavcima MSN-a (192, 196, 199, 200). Pokazano je i da MSN sadrže visoku razinu GC, cGMP, PKG (201), te dopaminom- i cAMP-

reguliranog fosfoproteina-32 (DARPP-32) (202). Studije *in vitro* također su pokazale da NO-ovisna stimulacija aktivnosti cGMP-ovisne protein kinaze rezultira u porastu DARPP-32 fosforilacije u strijatonigralnim nervnim ograncima (203). Stanje fosforilacije DARPP-32 predstavlja važan mehanizam integracije informacija koje pristižu do strijatonigralnih neurona preko mnoštva neuronskih putova (203).

NOS interneuroni primaju sinaptičke kontakte dopaminskih neurona međumozga i regulirani su aktivacijom DA receptora. Naime, neuronalna NOS aktivirana je *in vivo* eksplozivnim izbijanjem nigrostrijatalnih DA stanica preko mehanizma ovisnog o DA receptorima. Stimulacija SN u nizu robusno povećava istjecanje NO na način ovisan o intenzitetu podražaja (204). Pokazano je da zasebna podgrupa strijatalnih "trnastih" neurona koji projiciraju u SN kolokalizira cGMP-ovisnu protein kinazu (205). Ti neuroni sadrže također guanilil ciklazu (200) a aktiviraju ih generatori NO (205), što ukazuje da bi mogli biti potencijalni cilj za pentadekapeptid BPC 157. Ti strijatonigralni krugovi pretežito inerviraju neurone SNr ali imaju i izravne kontakte s dendritima dopaminskih stanica u pars reticulata i compacta (206). Elektrofiziološka ispitivanja su pokazala da ovi krugovi imaju suprotne funkcije i mogu regulirati aktivnost nigrostrijatalnih DA stanica različito ovisno o razini strijatalne stimulacije (slika 3).

**SLIKA 3.**

Model NO-posredovane aktivacije strijatonigralnih putova koji reguliraju aktivnost DA stanica. U prikazanom modelu, NO može aktivirati mrežu strijatalnih izlaznih neurona (A), koji tvore sinaptičke konekcije (puna strjelica) s inhibitornim GABAergicima u SNr. Ove stanice u SNr inerviraju DA stanice u SNC (Grace i Bunney 1979, 1985) (206, 207) i inhibirane su nakon NO aktivacije ovog neizravnog strijatonigralnog puta, što rezultira u otkočenju aktivnosti DA stanica. B: dodatna mreža strijatalnih projekcijskih stanica koje nisu aktivirane putem NO mogu također regulirati aktivnost DA stanica preko izravnog ili neizravnog multisinaptičkog inhibitornog unosa u SNC (isprekidana strjelica). Uklanjanje strijatalnog tonusa NO nakon lokalne infuzije antagonista NO smanjuje aktivnost neizravnog ekscitatornog puta i rezultira u porastu utjecaja strijatonigralnog inhibitornog puta za vrijeme stimulacije strijatuma (202).

6. ZAKLJUČCI

1. Nije izazvana katepsija i gubitak refleksa uspravljanja ili somatosenzorna dizorijentacija u štakora kada je BPC 157 primjenjen sam.
2. Somatosenzorni / motorni oporavak poboljšán po različitom obrascu kod svih ispitivanih anestetika s pentadekapeptidom BPC 157.
3. Sedativno / hipnotski učinak diazepama antagoniziran s pentadekapeptidom BPC 157.
4. Anestetski učinak tiopentala antagoniziran s pentadekapeptidom BPC 157.
5. Katepsija nastala djelovanjem fentanila, droperidola i talamonalá antagonizirana s BPC 157.
6. Bez promjene anestetske potencije propofola i ketamina uz pentadekapeptid BPC 157.
7. Rezultati upućuju na zaključak da BPC 157 ima antagonistički učinak na opće anestetsko djelovanje, te da postoji mogućnost da bi mogao poslužiti kao sredstvo za skraćenje vremena oporavka nakon prestanka djelovanja nekih anestetika.
8. Pentadekapeptid BPC 157 dovodi do povećanja ED_{50} i/ili skraćenia vremena oporavka ovisno o značenju NO/cGMP transmisije u djelovanju određenog lijeka.
9. Poželjan je razvoj specifičnih tvari koje bi utjecale samo na određene aspekte metabolizma središnjeg živčanog sustava. Tako se može zamisliti sigurnije i učinkovitije vođenje anestezije.
10. Točan mehanizam djelovanja pentadekapeptida BPC 157 ostaje nepoznat, te su potrebna daljnja istraživanja.

7. SAŽETAK

U ovom istraživanju željelo se ispitati antagonizam pentadekapeptida BPC 157 na opće anestetsko djelovanje diazepama, propofola, tiopentala, ketamina, fentanila, droperidola i talamonala u štakora. Pentadekapeptid BPC 157 je prvo apliciran sam u dozi 10 µg/kg i. p. Pentadekapeptid BPC 157 (10 pg, ili 10 ng ili 10 µg/kg t.t.) ili jednak volumen fiziološke otopine davani su 5 minuta prije različitih anestetika (/kg t.t.): diazepama (10,0; 15,0; 20,0 mg), propofola (40,0; 75,0; 100,0 mg), tiopentala (20,0; 30,0; 40,0 mg), ketamina (50,0; 75,0; 100,0 mg), fentanila (200,0; 300,0; 400,0 µg), dehidrobenzperidola (6,0; 8,0 mg), talamonala (kombinacije fentanila i dehidrobenzperidola) (0,1 + 5,0 mg; 0,15 + 7,5 mg). Sve tvari ili fiziološka otopina davani su u akutnoj primjeni, u volumenu 5 mL/kg aplicirani intraperitonealno (i. p.). U pokusima se koristilo 6 ženki Wistar štakora težine 200-250 g po skupini, ukupno 912 štakora. Štakori su ispitivani individualno u kavezu i slobodnom polju. Svi štakori su korišteni samo jedanput u pokusu. Opća anestetska / anestheticima slična potencija lijekova ispitivana je koristeći gubitak refleksa uspravljanja kao indeks anestezije. Prosječna ocjena anestezije ili anesteziji sličnog učinka (POA) računala se iz prosjeka ocjena bilježenih svakih 5 minuta nakon injekcije anestetika do oporavka refleksa uspravljanja u svih životinja u skupini do najviše 2 sata. Vrijeme potrebno za povratak normalnog refleksa uspravljanja smatrano je vremenom oporavka (min). Broj štakora koji su izgubili refleks uspravljanja od ukupnog broja koji su dobili specifični tretman korišten je za izračunavanje postotka gubitka refleksa uspravljanja. ED₅₀ gubitka refleksa uspravljanja, interval povjerenja 95%-ne pouzdanosti i pouzdanost razlika u ED₅₀ vrijednostima među grupama određivani su po metodi Litchfield-a i Wilcoxon-a. Učinak anestetika na pokretljivost i

somatosenzornu orijentaciju procjenjivan u 10 min intervalima, na zasebnim grupama štakora, prema reakciji na standardiziranu kompresiju repa. Odgovori su procjenjivani korištenjem jednostavnog bodovnog sustava Jelovca i sur., (1998). Motorni i lokomotorni odgovori ocijenjivani su u 10 min intervalima u kavezu i otvorenom polju korištenjem jednostavnog bodovnog sustava Ellinwood-a i Balster-a (1974). Vrijeme katalepsije određivalo se nakon i. p. primjene fentanila, dehidrobenzperidola i talamonal. Stanje katalepsije štakora procjenjivano je postavljanjem štakora u položaj uzdizanja postavljanjem prednjih šapa na ljestvicu. Ukoliko su štakori zadržavali kataleptički položaj duže od 20 sekundi, to je ocjenjivano katalepsijom. Vrijeme za koje su štakori održavali to imobilno stanje bilježilo se kumulativno do 120 min.

Aplikacijom BPC 157 10 µg/kg i. p. samog nisu izazvane nikakve promjene. Primjenom BPC 157 i. p. antagonizirano je sedativno/hipnotsko djelovanje diazepama. ED₅₀ za diazepam značajno je povećana sa 15,1 (13,7-16,5) na 17,3 (15,8-18,9) mg/kg u prisustvu pentadekapeptida BPC 157 (p<0,05). Promjena ED₅₀ vrijednost za diazepam iznosila je + 14 % nakon sve tri doze pentadekapaptida BPC 157. Aplikacijom BPC 157 smanjena je POA i postotak štakora s gubitkom refleksa uspravljanja i 64 % skraćeno vrijeme oporavka (p<0,05) inducirano s diazepamom. Primjenom BPC 157 značajno je poboljšana somatosenzorna orijentacija u prvih 20 minuta (p<0,05) i aktivnost štakora u mjestu od 20-40 minute (p<0,05 i p<0,001). Propofolom je povećan postotak gubitka refleksa uspravljanja na način ovisan o dozi s vrijednošću ED₅₀ 82,6 (73,6-92,6). Primjenom BPC 157 nije promijenjeno opće anestetsko djelovanje propofola. Primjenom BPC 157 poboljšana je somatosenzorna orijentacija u 5 min (p<0,05), te od 40 minute i motorna aktivnost (p<0,05) kod

propofola 100 mg / kg t. t. Primjenom BPC 157 signifikantno je antagoniziran anestetski učinak tiopentala. Djelovanjem tiopentala povećan je postotak gubitka refleksa uspravljanja na način ovisan o dozi s vrijednošću ED_{50} 21,1 (10,1-32,1). Opća anestetska potencija kalkulirana preko ED_{50} vrijednosti za tiopental, značajno je smanjena za 10 ng / kg BPC 157 sa 21,1 (10,1-32,1) na 39,5 (26,2-67,8) ($p < 0,05$) i za 10 μ g / kg BPC 157 sa 21,1 (10,1-32,1) na 37,2 (24,3-62,3) ($p = 0,05$). Promjena ED_{50} vrijednost za tiopental iznosila je + 87 % za 10 ng/kg i + 76 % za 10 μ g/kg BPC 157. Uz BPC 157 značajno je smanjena POA i postotak štakora s gubitkom refleksa uspravljanja i 89 % skraćeno vrijeme oporavka ($p < 0,05$). Somatosenzorna orijentacija i motorni oporavak značajno su poboljšani uz BPC 157 u cijelom periodu promatranja ($p < 0,05$ i $p < 0,001$). Djelovanjem ketamina povećan je postotak gubitka refleksa uspravljanja na način ovisan o dozi s vrijednošću ED_{50} 73,6 (65,2-82,5). Opća anestetska potencija kalkulirana preko ED_{50} vrijednosti za ketamin, nije promijenjena uz BPC 157. Primjenom BPC 157 nisu promijenjene POA, postotak štakora s gubitkom refleksa, niti vrijeme oporavka refleksa uspravljanja. Primjenom BPC 157 poboljšana je somatosenzorna orijentacija nakon 50 minute ($p < 0,05$ i $p < 0,001$) i potencirano ubrzano kretanje štakora nakon 70-80 minute ($p < 0,001$ i $p < 0,05$). Fentanil je izazvao kataleptički odgovor u uskom rasponu doza, 2-3 minute nakon injekcije. Kumulativno trajanje katalepsije u štakora kojima je injiciran fentanil 300 μ g/kg t. t. iznosilo je $22,23 \pm 3,56$ min. Katalepsija inducirana fentanilom bila je popraćena Straubovim fenomenom, opaženim kod mišićne rigidnosti. Primjena fentanila 200,0 μ g/kg nije izazvala katalepsiju. Štakori kojima je primijenjen fentanil 400 μ g/kg t.t. ispoljili su nevoljna uvrtnja trupa sa stražnjim šapama u abdukciji i letalnim ishodom nekolicine. Primjenom

pentadekapeptida BPC 157 ng- μ g značajno je skraćeno vrijeme oporavka katalepsije inducirano s fentanilom 300,0 μ g/kg na $5,12 \pm 1,29$ i $4,15 \pm 1,26$ min ($p < 0,05$). Vrijeme katalepsije skraćeno je + 76% za 10 ng/kg i 81% za 10 μ g/kg BPC 157. Međutim, s BPC 157 se nije značajno utjecalo na poremećaj izazvan fentanilom 400 μ g/kg. Droperidolom inducirana katalepsija trajala je duže od katalepsije izazvane fentanilom. Kataleptogeni učinak dehidrobenzperidola, ispoljen kod doze 6 mg / kg t. t., pojavio se tek u drugom satu i bio slabije izražen kod doze 8 mg / kg t. t. Primjenom pentadekapeptida BPC 157 10 μ g ili 10 ng / kg t. t. oslabljena je katalepsiju u štakora tretiranih droperidolom sa $60,45 \pm 2,25$ na $0,00 \pm 0,00$ min ($p < 0,05$). Primjenom pentadekapeptida BPC 157 oslabljena je katalepsija kod niže doze (fentanil 0,10 mg/kg + droperidol 5,0 mg/kg) talamonalom sa $20,00 \pm 2,28$ na $0,00 \pm 0,00$ min.

Pentadekapeptid BPC 157 nema učinak na ponašanje normalnih životinja, ali je učinkovit u životinja kod kojih postoji poremećaj izazvan djelovanjem anestetika. Pokazano da BPC 157 smanjuje anestetski učinak tiopentala, odnosno hipnotski učinak diazepama, te skraćuje trajanje katalepsije izazvane fentanilom, droperidolom i talamonom. Također, pokazano da BPC 157 ne mijenja anestetski učinak propofola i ketamina.

BPC 157 ima učinke kod anestetika, u čijem je djelovanju posebno važna uloga NO/cGMP sustava, te posreduje biološke učinke i drugih neurotransmitera, čije djelovanje je povezano s njegovim primarnim učinkom.

Sveukupno, rezultati upućuju na zaključak da BPC 157 ima antagonistički učinak na opće anestetsko djelovanje, te da postoji mogućnost da bi mogao poslužiti

kao sredstvo za skraćenje vremena oporavka nakon prestanka djelovanja nekih anestetika.

Ključne riječi: Gastrički pentadekapeptid BPC 157, opći i. v. anestetici, intraperitonealna primjena, refleks uspravljanja, somatosenzorna orijentacija, katalepsija, lokomotorna aktivnost, štakori.

8. SUMMARY

The antagonistic effect(s) of pentadecapeptide BPC 157 in general anaesthesia in rats

The aim of this investigation was to inquire the antagonism activity of pentadecapeptide BPC 157 on general anaesthetic activity of diazepam, propofol, thiopental, ketamine, fentanyl, dehydrobenzperidol and thalamonal in rats, and if observed, should enable information about mechanism of action. Pentadecapeptide BPC 157 was applied firstly alone. Pentadecapeptide BPC 157 (10 pg kg^{-1} , or 10 ng kg^{-1} or $10 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$) or the equal volume of physiologic solution were applied 5 min before the various anaesthetics ($\text{kg}^{-1} \text{ b. w.}$): diazepam (10.0; 15.0; 20.0 mg), propofol (50.0; 75.0; 100.0 mg), thiopental (20.0; 30.0; 40.0 mg), ketamine (50.0; 75.0; 100.0 mg), fentanyl (0.20; 0.30; 0.40 mg), dehydrobenzperidol (6.0; 8.0 mg) and thalamonal (0.1 + 5.0; 0.15 + 7.5 mg). All the substances or physiologic solution were given in acute application, in volume 5 mL/kg intraperitoneally (i.p.). In the experiments were used 6 rats per group, total 912 rats. All rats were used only once in the experiment. The rats were examined in the cage and in the open field. General anaesthetic drugs activity was determined according to the loss of righting reflex assessed in 5 min. intervals, as the indicator of anaesthesia. Mean anaesthetic scores (MASs) were calculated from mean of scores recorded every 5 minutes after anaesthetic injection to recovery the loss of righting reflex in all animals in group for a maximum of 2 h. The time required to return to a normal righting reflex was considered the recovery time (min). The number of animals losing the righting reflex of the total that received a specific treatment was used to calculate the percentage of loss of the righting reflex. ED_{50} for loss of the righting reflex, 95% confidence limits

of that value, and the significance of differences in ED_{50} values between groups were determined according to the method of Litchfield and Wilcoxon. Somatosensory (dis)orientation was evaluated in separate groups in rats according to their reaction to the standardized compression of the tail root in 10 min intervals. Responses were assessed using simple scoring system, described by Jelovac et al., (1998). Motor and locomotor behavioral responses were assessed in 10 min intervals in a cage and open field using simple scoring system, described by Ellinwood and Balster (1974). The cataleptic status of rats was assessed by placing animals in a rearing position. If the rats maintained cataleptic posture for more than 20 s, it was scored as cataleptic. The time during which the rats maintained this immobile position was recorded cumulatively up to 120 min.

By application of BPC 157 alone, we did not note any change in behavior of the rats. BPC 157 antagonized sedative/hypnotic effects of diazepam. ED_{50} was significantly increased from 15.1 (13.7-16.5) to 17.3 (15.8-18.9) $mg\ kg^{-1}$ ($p<0.05$). The changes in the ED_{50} values for diazepam were + 14 %, after all doses of BPC 157 respectively. The MASs, the number of rats with loss of righting reflex, and the recovery time were decreased ($p<0.05$). Relative change in recovery time for diazepam was 64%. Sedative/hypnotic effect of diazepam were decreased ($p<0.05$), and activity in place was increased ($p<0.05$). Propofol increased the rate of rats with loss of righting reflex in a dose-dependent fashion with ED_{50} 82.6 (73.6-92.6). General anaesthetic activity of propofol was not changed with BPC 157. In $ng-\mu g$ BPC group by propofol 100 $mg\ kg^{-1}$ somatosensory orientation was improved 5 min and motor activity 40 min after propofol administration ($p<0.05$). General anaesthetic potency calculated by ED_{50} value for thiopental, was significantly

decreased for 10 ng kg^{-1} from 21.1 (10.1-32.1) to 39.5 (26.2-67.8) ($p<0.05$) and for $10 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ from 21.1 (10.1-32.1) to 37.2 (24.3-62.3) ($p=0.05$). The changes in the ED_{50} values for tiopental were + 87 % after 10 ng kg^{-1} and + 76 % after $10 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ of BPC 157 respectively. MASs, the percentage of rats with loss of righting reflex, and recovery time were significantly decreased ($p<0.05$). Relative change in recovery time for thiopental was 89 %. Somatosensory orientation was improved after 50 min, and motoric recovery was significantly improved by ng- μg doses of BPC 157 after 70-80 min ($p<0.05$ and $p<0.001$). Ketamine increased the rate of rats with loss of righting reflex in a dose-dependent fashion with ED_{50} 73.6 (65.2-82.5). General anaesthetic activity of ketamine was not changed with BPC 157. BPC 157 generally improved somatosensory dysorientation of ketamine 50 min after injection ($p<0.05$ and $p<0.001$). BPC 157 improved and changed the motoric recovery 70-80 min after injection ($p<0.001$ and $p<0.05$). Fentanyl induced a cataleptic response by fentanyl $300 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Catalepsy started about 1-2 min after fentanyl injection and lasted $22,23 \pm 3,56$ min. All rats displayed the Straub tail reaction with prominent muscular rigidity. The rats did not show catalepsy after fentanyl $200 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Rats given fentanyl $400 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ displayed involuntary body torsion with hind paws in abduction, and lethal outcome. BPC 157 significantly ($p<0.05$) shortened catalepsy induced by fentanyl $300 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ to 5.12 ± 1.29 and 4.15 ± 1.26 min. Relative change in recovery from fentanyl catalepsy was 81%. In difference, BPC 157 did not have any positive impact on recovery of rats administered fentanyl $400 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Dehydrobenzperidol at doses 6 and 8 mg kg^{-1} induced dose-dependent cataleptic action. Dehydrobenzperidol 6 mg kg^{-1} produced a cataleptic response with duration of $60,45 \pm 2,25$, and was about 3-fold greater than that produced by fentanyl $300 \text{ } \mu\text{g}$

kg⁻¹. BPC 157 significantly decreased catalepsy in rats treated by dehydrobenzperidol (6.0 and 8.0 mg kg⁻¹) ($p < 0.05$). Relative change in recovery time for droperidol was 100 %. Treatment with pentadecapeptide BPC 157 decreased catalepsy by lower dose (fentanyl 0,1 mg kg⁻¹ + droperidol 5,0 mg kg⁻¹) of thalamonal from $20,00 \pm 2,28$ min on $0,00 \pm 0,00$ min.

Pentadecapeptide BPC 157 has no effect on the normal animals, but it is effective in animals with disturbances caused by i. v. general anaesthetics. The activity of CNS, significantly changed by effects of BPC 157, caused the change of anaesthetic potency of thiopental, and the change of hypnotic potency of diazepam. BPC 157 also decreased the catalepsy time caused by fentanyl, droperidol and thalamonal. But, it not changed the anaesthetic potency of propofol and ketamine. BPC 157 corrects the disturbances which appear by anesthetics, in whose activity is the NO/cGMP transmission particular important, and it interfere also biological impact of other neurotransmitter systems, whose activity is linked with its primary effects.

Key words: Gastric pentadecapeptide BPC 157, general anaesthetics, intraperitoneally administration, righting reflex, somatosensory orientation, catalepsy, locomotor activity, rats.

9. LITERATURA

- 1 Halsey MJ. Molecular interactions of anaesthetics with biological membranes. *Gen Pharmacol* 1992; 23: 1013-1016.
- 2 Angel A. Central neuronal pathways and the process of anaesthesia. *Br J Pharmacol* 1993; 71: 148-161.
- 3 Little HJ. How far has molecular pharmacology furthered our understanding of the mechanism of general anaesthesia? *Pharmacol. & Ther* 1996; 69: 37-58.
- 4 Little HJ, Clark A, Watson WP. Investigations into pharmacological antagonism of general anaesthesia. *British J Pharmacol* 2000; 129: 1755-1763.
- 5 Bailey PL, Egan TD, Stanley TH. Intravenous opioid anesthetics. U: Miller RD, Cuchiara RF, Miller ED, Reves JG, Roizen MF, Savarese JJ. *Izd. Anesthesia*. Philadelphia: Churchill Livingstone. 2000; 273-376.
- 6 Plourde G, Chartrand D, Fiset P, Font S, Backman SB. Antagonism of sevoflurane anaesthesia by physostigmine: effects on the auditory steady-state response and bispectral index. *Br J Anaesth* 2003; 91: 583-6.
- 7 Agostin S, Salt PJ, Erdmann W, Hilkemeijer T, Bencini A, Langrehr D. Antagonism of ketamine-diazepam anaesthesia by 4-aminopyridine in human volunteers. *Br J Anaesth* 1980; 52: 367-9.
- 8 Sellin LC, Laakso PS. Antagonism of ethanol-induced depressant effects by 4-aminopyridine in the central nervous system of the rat. *Neuropharmacology* 1987; 26: 385-90.
- 9 Breese GR, Cooper BR, Prange AJ, Cott JM, Lipton MA. Antagonism of ethanol narcosis by thyrotropin releasing hormone. *Life Sci* 1974; 14: 1053-1063.
- 10 French TA, Massarano JM, Weiner N. Influence of thyrotropin releasing hormone and catecholaminergic interactions on CNS ethanol sensitivity. *Alc Clin Exp Res* 1993; 17: 99-106.
- 11 Matsushita M, Yonemori F, Hamada A, Toide K, Iwata K. Effect of JTP-2942, a novel thyrotropin releasing hormone analog, on pentobarbital-induced anaesthesia in rats. *Eur J Pharmacol* 1995; 276: 177-182.
- 12 Leeuwijn RS, Vanderwal JK, Spanjer W. Interactions of cholinesterase inhibitors and glucocorticoids with ketamine and pentobarbitone-induced general anaesthesia in the rat: possible effects on central cholinergic activity. *Br J Pharmacol* 1984; 82: 339-347.
- 13 Dolin SJ, Halsey MJ, Little HJ. Effects of the calcium channel agonist, Bay K 8644, on general anaesthetic potency in mice. *Br J Pharmacol* 1988; 94: 413-422.

- 14 Ohri AK, Sharma DR, Thakur JR, Santoshi ID. Halothane induced sedation: antagonism with aminophylline. *J Anaesth Clin Pharmacol* 1998; 14: 255-62
- 15 Turan A, Memiş D, Karamanlýolu B, Colak A, Pamukçu Z, Turan N. Effect of aminophylline on recovery from sevoflurane anaesthesia. *Eur J Anaesth* 2002; 19: 452-4.
- 16 Turan A, Memiş D, Karamanlýolu B, Pamukçu Z, Süt N. Effect of aminophylline on bispectral index. *Acta Anaesth Scand* 2004; 48: 408-11.
- 17 Kesecioglu J, Ruppreht J, Telci L, Dzoljic M, Erdmann W. Effect of aminophylline or physostigmine on recovery from nitrous oxide-enflurane anaesthesia. *Acta Anaesth Scand* 1991; 35: 616-20.
- 18 Wu CC, Lin CS, Wu GJ et al., Doxapram and aminophylline on bispectral index under sevoflurane anaesthesia: a comparative study. *Eur J Anaesth* 2006; 23: 937-41.
- 19 Krintel JJ, Wegmann F. Aminophylline reduces the depth and duration of sedation with barbiturates. *Acta Anaesth Scand* 1987; 31: 352-4.
- 20 Arvidsson D, Niemand D, Martinell S, Ekstrom-Jodal B. Amonophylline reversal of diazepam sedation. *Anaesthesia* 1984; 39: 806.9.
- 21 Niemand D, Martinell S, Arvidsson S, Ekstrom-Jodal B, Svedmyr N. Adenosine in the inhibition of diazepam sedation by aminophylline *Acta Anaesth Scand* 1986; 30: 493-5.
- 22 Niemand D, Martinell S, Arvidsson S, Svedmyr N, Ekstrom-Jodal B. Aminophylline inhibition of diazepam sedation: is adenosine blockade of GABA-receptors the mechanism? *Lancet* 1984; 8374: 463-4.
- 23 Sibai AN, Sibai AM, Baraka A. Comparison of flumazenil with aminophylline to antagonise midazolam in elderly patients. *Br J Anaesth* 1991; 66: 591-5.
- 24 Kanemaru Y, Nishikawa K, Goto F. Bispectral index and regional cerebral oxygen saturation during propofol/N₂O anesthesia. *Can J Anaesth* 2006; 53: 363-9.
- 25 Lever MJ, Miller KW, Paton WDM, Smith B. Pressure reversal of anaesthesia. *Nature* 1971; 231: 368-371.
- 26 Halsey MJ, Wardley-Smith B. Pressure reversal of a narcosis produced by anaesthetics, narcotics and tranquillisers. *Nature* 1975; 257: 811-3.
- 27 Halsey MJ, Wardley-Smith B, Green CJ. Pressure reversal of general anaesthesia – a multi-site expansion hypothesis. *Br J Anaesth* 1978; 50: 1091-6.
- 28 Miller KW, Wilson MW. The pressure reversal of a variety of anesthetic agents in mice. *Anesthesiology* 1978; 48: 104-10.
- 29 Little HJ. The effects of ketamine and high pressure on the responses to GABA of the superior cervical ganglion. *Br J Pharmacol* 1982; 77: 209-16.

- 30 Zinebi F, Fagni L, Hugon M. The influence of helium pressure on the reduction induced in field potentials by various amino acids and on the GABA-mediated inhibition in the CA1 region of hippocampal slices in the rat. *Neuropharmacology* 1988; 27: 57-65.
- 31 Franks NP. Molecular targets underlying general anaesthesia. *Br J Pharmacol* 2006; 147: 72-81.
- 32 Fujimiya M, Inui A. Peptidergic regulation of gastrointestinal motility in rodents. *Peptides* 2000; 21: 1565-82.
- 33 Sikiric P, Gyires K, Seiwert S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Rotkvic I, Turkovic B, Udovicic I, Jagic V, Mildner B, Duvnjak M, Danilovic Z. The effect of pentadecapeptide BPC 157 on inflammatory, non-inflammatory, direct and indirect pain and capsaicin neurotoxicity. *Inflammopharmacology* 1993; 2: 121-127.
- 34 Sikiric P, Petek M, Rucman R, Seiwert S, Grabarevic Z, Rotkvic I, Jagic V, Mildner B, Duvnjak M, Lang N. A new gastric juice peptide, BPC-an overview of stomach/stress/organoprotection hypothesis and BPC beneficial effects. *J Physiol (Paris)* 1993; 87: 313-27.
- 35 Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Rotkvic I, Turkovic B, Jagic V, Mildner B, Duvnjak M, Danilovic Z. Hepatoprotective effect of BPC 157, a 15-aminoacid peptide, on liver lesions induced by either restraint stress or bile duct and hepatic artery ligation or CCl₄ administration. A comparative study with dopamine agonists and somatostatin. *Life Sci* 1993; 53: 291-6.
- 36 Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, Petek M, Rucman R, Turkovic B, Rotkvic I, Jagic V, Duvnjak M, Mise S. The beneficial effect of BPC 157, a 15 amino acid peptide BPC fragment, on gastric and duodenal lesion induced by restraint stress, cysteamine and 96% ethanol in rats. A comparative study with H₂ receptor antagonists, dopamine promoters and gut peptides. *Life Sci.* 1994; 54: 63-8.
- 37 Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Gjurasin M, Konjevoda P, Separovic J, Ljubanovic D, Artukovic B, Bratulic M, Tisljar M, Jurina Lj, Buljat G, Miklic P, Marovic A. The beneficial effect of a novel pentadecapeptide BPC 157 on gastric lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin and capsaicin neurotoxicity. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1604-14.
- 38 Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S., Zoricic I, Jurina Lj, Konjevoda P, Hanzevacki M, Ljubanovic D, Separovic J, Gjurasin M, Bratulic M, Artukovic B, Jelovac N, Buljat G. Salutary and prophylactic effect of pentadecapeptide BPC 157 on acute pancreatitis and concomitant gastroduodenal lesions in rats. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1518-26.

- 39 Sikiric P, Mazul B, Seiwert S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkovic I, Mise S, Zoricic I, Jurina LJ, Konjevoda P, Hanzevac M, Gjurasin M, Separovic J, Ljubanovic D, Artukovic B, Bratulic M, Tisljar M, Miklic P, Sumajstoric J. Pentadecapeptide BPC 157 interactions with adrenergic and dopaminergic systems in mucosal protection in stress. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 661-71.
- 40 Sikiric P, Mikus D, Seiwert S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkovic I, Mise S, Zoricic I, Peric J, Konjevoda P, Perovic D, Jurina LJ, Hanzevac M, Separovic J, Gjurasin M, Jadrijevic S, Jelovac N, Miklic P, Buljat G, Marovic A. Pentadecapeptide BPC 157, cimetidine, ranitidine, bromocriptine and atropine effect in cysteamine lesions in totally gastrectomized rats. A model study for cytoprotective studies. *Dig Dis Sci* 1997; 42 :1029-37.
- 41 Sikiric P, Seiwert S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkovic I, Mise S, Zoricic I, Perovic D, Simicevic V, Hanzevac M, Ljubanovic D, Artukovic B, Bratulic M, Tisljar M, Rekec B, Gjurasin M, Miklic P, Buljat G. Pentadecapeptide BPC 157 positively affects both non-steroidal anti-inflammatory agents-induced gastrointestinal lesions and adjuvant arthritis in rats. *J Physiol (Paris)* 1997; 91:113-22.
- 42 Veljaca M, Lech CA, Pllana R, Sanchez B, Chan K, Guglietta A. BPC-157 reduces trinitrobenzene sulfonic acid-induced colonic damage in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 272: 417.
- 43 Veljaca M, Pllana R, Lesch CA, Sanchez B, Chan K, Guglietta A. Protective effect of BPC 157 on a rat model of colitis. *Gastroenterology* 1994; 106: 789.
- 44 Veljaca M, Lesch CA, Sanchez B, Low J, Guglietta A. Protection of BPC-15 on TNBS-induced colitis in rats: Possible mechanisms of action. *Gastroenterology* 1995; 108: 936.
- 45 Bosnjak ZJ, Graf BM, Sikiric P. Protective effects of newly isolated gastric peptide following hypoxic and reoxygenation injury in the isolated guinea pig heart. *FASEB J* 1994; 8: A129.
- 46 Grabarevic Z, Tisljar M, Artukovic B, Bratulic M, Dzaja P, Seiwert S, Sikiric P, Peric J, Geres D, Kos J. The influence of BPC 157 on nitric-oxide agonists and antagonist induced lesions in broiler chicks. *J Physiol* 1997; 91: 139-49.
- 47 Kalogjera L, Ries N, Baudoin T, Ferencic Z, Protic R, Pegan B. Dose dependent protective effect of BPC 157 in capsaicin induced rhinitis in rats. *Eur Arch Otorhinolaringol* 1997; 254: 9-11.
- 48 Seiwert S, Sikiric P, Grabarevic Z, Zoricic I, Hanzevac M, Ljubanovic D, Coric V, Konjevoda P, Petek M, Rucman R, Turkovic B, Perovic D, Mikus D, Jadrijevic S, Medvidovic M, Tadic T, Romac B, Kos J, Peric J, Kolega, Z. BPC 157 effect on healing. *J. Physiol. (Paris)* 1997; 91: 173-8.

- 49 Moncada S, Palmer R M J, Higgs E A. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev* 1991; 43: 109-42.
- 50 Whittle BJR, Boughton-Smith N K, Moncada S. Biosynthesis and role of the endothelium-derived vasodilator nitric oxide in gastric mucosa. *Ann NY Acad Sci* 1992; 664: 126-39.
- 51 Segovia G, Mora F. Role of nitric oxide in modulating the release of dopamine, glutamate, and GABA in striatum of the freely moving rat. *Brain Res Bull* 1998; 45: 275-9.
- 52 Szabo S, Trier J S, Brown A, Schnoor J. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterology* 1985; 88: 228-36.
- 53 Mózsik G, Sikiric P, Seiwerth S. Pentadecapeptide BPC 157 (PLD116, PL14736, Pliva) influences ATP energy system and antagonizes 0.6 M HCl- and 96% ethanol-gastric lesion in rat. *Digestion* 2005; 73: 41.
- 54 Paré W, Klucyznski JM. The effect of new gastric juice peptide BPC on classic stress triad in stress procedure. *Exp Clin Gastroenterol* 1994; 2: 234.
- 55 Ko J K, Cho C H. Co-regulation of mucosal nitric oxide and prostaglandin in gastric adaptive cytoprotection. *Inflamm Res.* 1999; 48: 471-8.
- 56 Holzer P. Peptidergic sensory neurons in the control of vascular functions: Mechanisms and significance in the cutaneous and splanchnic vascular beds. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1992; 121: 49-146.
- 57 Sikiric P, Petek M, Rucman R, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rotkvic I, Turkovic B, Jagic V, Mildner B, Duvnjak M, et al. A new gastric juice peptide, BPC. An overview of the stomach-stress-organoprotection hypothesis and beneficial effects of BPC. *J Physiol Paris* 1993; 87: 313-27.
- 58 Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Blagaic AB, Zoricic I, Sever M, Klicek R, Radic B, Keller N, Sipos K, Jakir A, Udovicic M, Tonkic A, Kokic N, Turkovic B, Mise S, Anic T. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 in trials for inflammatory bowel disease (PL-10, PLD-116, PL 14736, Pliva, Croatia). Full and distended stomach, and vascular response. *Inflammopharmacology* 2006; 14: 214-21.
- 59 Xue XC, Wu Yj, Gao MT, Li WG, Zhao N, Wang ZL, Bao CJ, Yan Z, Zhang Yq. Protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on gastric ulcer in rats. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1032-6.
- 60 Boban Blagaic A, Blagaic V, Romic Z, Sikiric P. The influence of gastric pentadecapeptide BPC 157 on acute and chronic ethanol administration in mice. *Eur J Pharmacol* 2004; 499: 285-90.
- 61 Boban Blagaic A, Blagaic V, Romic Z, Jelovac N, Dodig G, Rucman R, Petek M, Turkovic B, Seiwerth S, Sikiric P. The influence of gastric pentadecapeptide BPC 157 on acute and chronic ethanol administration in mice. The effect of N^G-nitro-L-arginine methyl ester and L-arginine. *Med Sci Monit* 2006; 12: 36-45.

- 62 Prkacin I, Separovic J, Aralicia G, Perovic D, Gjurasin M, Lovric-Bencic M, Stancic-Rokotov D, Staresinic M, Anic T, Mikus D, Sikiric P, Seiwerth S, Mise S, Rotkvic I, Jagic V, Rucman R, Petek M, Turkovic B, Marovic A, Sebecic B, Boban-Blagaic A, Kokic N. Portal hypertension and liver lesions in chronically alcohol drinking rats prevented and reversed by stable gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL-10, PLD-116), and propranolol, but not ranitidine. *J Physiol (Paris)*; 2001; 95: 315-25.
- 63 Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Konjevoda P, Perovic D, Jurina L, Separovic J, Hanzevacki M, Artukovic B, Bratulic M, Tisljar M, Gjurasin M, Miklic P, Stancic-Rokotov D, Slobodnjak Z, Jelovac N, Marovic A. The influence of a novel pentadecapeptide BPC 157 on NG-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effect on stomach mucosal integrity and blood pressure. *Eur J Pharmacol* 1997; 332: 23-33
- 64 Lovric-Bencic M, Sikiric P, Hanzevacki JS, Seiwerth S, Rogic D, Kusec V, Aralica G, Konjevoda P, Batelja L, Blagaic AB. Doxorubicine-congestive heart failure-increased big endothelin-1 plasma concentration: reversal by amlodipine, losartan, and gastric pentadecapeptide BPC157 in rat and mouse. *J Pharmacol Sci* 2004; 95: 19-26.
- 65 Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, Dodig G, Staresinic M, Anic T, Zoricic I, Rak D, Perovic D, Aralica G, Buljat G, Prkacin I, Lovric Bencic M, Separovic J, Seiwerth S, Rucman R, Petek M, Turkovic B, Ziger T, Boban Blagaic A, Bedekovic V, Tonkic A, Babic S. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates chronic amphetamine-induced behaviour disturbances. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 412-22.
- 66 Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Marovic A, Perovic D, Seiwerth S, Mise S, Turkovic B, Dodig G, Miklic P, Buljat G, Prkacin I. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates disturbances induced by neuroleptics: the effect on catalepsy and gastric ulcers in mice and rats. *Eur J Pharmacol* 1999; 379: 19-31.
- 67 Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Perovic D, Konjevoda P, Marovic A, Seiwerth S, Grabarevic Z, Sumajstorcic J, Dodig G, Peric J. A novel pentadecapeptide, BPC 157, blocks the stereotypy produced acutely by amphetamine and the development of haloperidol-induced supersensitivity to amphetamine. *Biol Psychiatry* 1998; 43:511-9.
- 68 Sikiric P, Marovic A, Matoz W, Anic T, Buljat G, Mikus D, Stancic-Rokotov D, Separovic J, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Ziger T, Sebecic B, Zoricic I, Turkovic B, Aralica G, Perovic D, Duplancic B, Lovric-Bencic M, Rotkvic I, Mise S, Jagic V, Hahn V. A behavioural study of the effect of pentadecapeptide BPC 157 in Parkinson's disease models in mice and gastric lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydrophyridine. *J Physiol (Paris)* 1999; 93: 505-12.
- 69 Tohyama Y, Sikiric P, Diksic M. Effects of pentadecapeptide BPC 157 on regional serotonin synthesis in rat brain: alpha-methyl-L-tryptophan

- autoradiographic measurements. *Life Sci* 2004; 76: 345-57.
- 70 Boban Blagaic A, Blagaic V, Mirt M, Jelovac N, Dodig G, Rucman R, Petek M, Turkovic B, Anic T, Dubovecak M, Staresinic M, Seiwerth S, Sikiric P. Gastric pentadecapeptide BPC 157 effective against serotonin syndrome in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 512: 173-9.
- 71 Sikiric P, Separovic J, Buljat G, Anić T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, Marovic A, Prkacin I, Duplancic B, Zoricic I, Aralica G, Lovric-Bencic M, Ziger T, Perovic D, Rotkvic I, Mišs S, Hanzevacki M, Hahn V, Seiwerth S, Turkovic B, Grabarevic Z, Petek M, Rucman R. The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide BPC 157 in Porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants. *J Physiol Paris* 2000; 94: 99-104.
- 72 Sikiric P, Jelovac N, Jelovac Gjeldum A, Dodig G, Staresinic M, Anic T, Zoricic I, Perovic D, Aralica G, Buljat G, Prkacin I, Lovric-Bencic M, Separovic J, Seiwerth S, Rucman R, Petek M, Turkovic B, Ziger T. Anxiolytic effect of BPC 157, a gastric pentadecapeptide: shock probe/burying test and light/dark test. *Acta Pharmacol Sin* 2001; 22: 225-30.
- 73 Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Perovic D, Marovic A, Anic T, Seiwerth S, Mise S, Pigac B, Duplancic B, Turkovic B, Dodig G, Prkacin I, Stancic-Rokotov D, Zoricic I, Aralica G, Sebecic B, Ziger T, Slobodnjak Z. The effect of a novel pentadecapeptide BPC 157 on development of tolerance and physical dependence following repeated administration of diazepam. *Chin J Physiol* 1999; 42: 171-9.
- 74 Irifune M, Sato T, Kamata Y, Nishikawa T, Dohi T, Kawahara M. Evidence for GABA_A agonistic properties of ketamine: convulsant and anesthetic behavioral models in mice. *Anesth Analg* 2000; 91: 230-6.
- 75 Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Perovic D, Konjevoda P, Marovic A, Seiwerth S, Grabarevic Z, Sumajstorcic J, Dodig G, Peric J. A novel pentadecapeptide, BPC 157, blocks the stereotypy produced acutely by amphetamine and the development of haloperidol-induced supersensitivity to amphetamine. *Biol Psychiatry* 1998; 43:511-9.
- 76 Ellinwood EH Jr, Balster RL. Rating the behavioral effects of amphetamine. *Eur J Pharmacol* 1974; 28: 35-41.
- 77 Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Marovic A, Perovic D, Seiwerth S, Mise S, Turkovic B, Dodig G, Miklic P, Buljat G, Prkacin I. Pentadecapeptide BPC 157 attenuates disturbances induced by neuroleptics: the effect on catalepsy and gastric ulcers in mice and rats. *Eur J Pharmacol* 1999; 379: 19-31.
- 78 Adams MR, Brandon EP, Chartoff EH, Idzerda RL, Dorsa DM, McKnight GS. Loss of haloperidol induced gene expression and catalepsy in protein kinase A-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 12157-61.
- 79 Ivanković D. Osnove statističke analize za medicinare. Tisak: Kratis Zagreb.

Zagreb 1991.

- 80 Armitage P. Statistical methods in medical research. 1. izd. Blackwell Scientific publications Oxford and Edinburgh 1971.
- 81 Nicoll RA, Eccles JC, Oshima T, Rubia F. Prolongation of hippocampal inhibitory postsynaptic potentials by barbiturates. *Nature* 1975; 258: 625-7.
- 82 Harrison NL, Simmonds MA. Modulation of the GABA receptor complex by a steroid anaesthetic. *Brain Res* 1984; 323: 287-92.
- 83 Longon B, Demontis GC, Olsen RW. Enhancement of g-aminobutyric acid_A receptor function and binding by the volatile anesthetic halothane. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266: 153-9.
- 84 Collins GGS. Effects of the anaesthetic 2,6-diisopropylphenol on synaptic transmission in the rat olfactory cortex. *Br J Pharmacol* 1988; 95: 939-49.
- 85 Little HJ, Bichard AR. Differential effects of the benzodiazepine antagonist, Ro 15 – 1788, on the „general anaesthetic“ effects of the benzodiazepines in mice. *Br J Anaesth* 1984; 56: 1153-9.
- 86 Costa E, Auta J, Grayson DR, Matsumoto K, Pappas GD, Zhang X, Guidotti A. GABAA receptors and benzodiazepines: a role for dendritic resident subunit mRNAs. *Neuropharmacology*. 2002; 43: 925-37.
- 87 Rudolph U and Antkowiak B. Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5: 709–20.
- 88 Trapani G, Altomare C, Sanna E, Biggio G, and Liso G. Propofol in anesthesia. mechanism of action, structure-activity relationships, and drug delivery. *Curr Med Chem* 2000; 7: 249–71.
- 89 Jurd R, Arras M, Lambert S, Drexler B, Siegwart R, Crestani F, Zaugg M, Vogt KE, Ledermann B, Antkowiak B, and Rudolph U. General anesthetic actions in vivo strongly attenuated by a point mutation in the GABA_A receptor $\beta 3$ subunit. *FASEB J* 2003; 17: 250–2.
- 90 Sonner JM, Zhang Y, Stabernack C, Abaigar W, Xing YL, and Laster MJ. GABA_A receptor blockade antagonizes the immobilizing action of propofol but not ketamine or isoflurane in a dose-related manner. *Anesth Analg* 2003; 96: 706–12.
- 91 Chen X, Shu S, Bayliss DA. Suppression of I_h contributes to propofol-induced inhibition of mouse cortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 2005; 94: 3872-83.
- 92 Ying SW and Goldstein PA. Propofol-block of SK channels in reticular thalamic neurons enhances GABAergic inhibition in relay neurons. *J Neurophysiol* 2005; 93: 1935–48.
- 93 Bieda MC and MacIver MB. Major role for tonic GABA_A conductances in anesthetic suppression of intrinsic neuronal excitability. *J Neurophysiol* 2004; 92: 1658–67.
- 94 Angel A, LeBeau F. A comparison of the effects of propofol with other

- anaesthetic agents on the centripetal transmission of sensory information. *Gen Pharmacol* 1992; 23: 945-63.
- 95 Schulte D, Callado LF, Davidson C, Phillips PE, Roewer N, Schulte am Esch J, Stamford JA. Propofol decreases stimulated dopamine release in the rat nucleus accumbens by a mechanism independent of dopamine D2, GABAA and NMDA receptors. *Br J Anaesth* 2000; 84: 250-3.
 - 96 Tonner PH, Scholz J, Lamberz L, Schlamp N, Schulte am Esch J. Inhibition of nitric oxide synthase decreases anesthetic requirements of intravenous anesthetics in *xenopus laevis*. *Anesthesiology* 1997; 87: 1479-85.
 - 97 Carlen PL, Gurevich N, Davies MF, Blaxter TJ, O'Beirne M. Enhanced neuronal K⁺ conductance: a possible common mechanism for sedative/hypnotic drug action. *Can J Physiol Pharmacol* 1985; 63: 831-7.
 - 98 Olson RW. Drug interactions at the GABA receptor ionophore complex. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1982; 22: 245-7.
 - 99 Masuzawa M, Nakao S, Miyamoto E, Yamada M, Murao K, Nishi K, Shingu K. Pentobarbital inhibits ketamine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens: a microdialysis study. *Anesth Analg* 2003; 96: 148-52.
 - 100 Sawada S, Yamamoto C. Blocking action of pentobarbital on receptors for excitatory amino acids in the guinea pig hippocampus. *Exp Brain Res* 1985; 59: 226-31.
 - 101 Zeman S, Lodge D. Barbiturates selectively reduce depolarising responses to kainate rather than to AMPA in neonatal rat spinal cord in vitro. *Br J Pharmacol* 1991; 104: 335P.
 - 102 Galley HF, Webster NR. Brain nitric oxide synthase activity is decreased by intravenous anesthetics. *Anesth Analg*. 1996; 83: 591-4.
 - 103 Terasako K, Nakamura K, Miyawaki I, Toda H, Kakuyama M, Mori K. Inhibitory effects of anesthetics on cyclic guanosine monophosphate (cGMP) accumulation in rat cerebellar slices. *Anesth Analg*. 1994; 79: 921-6.
 - 104 Morgan WW, Bermudez J, Chang XY. The relative potency of pentobarbital in suppressing the kainic acid- or the N-methyl-D-aspartic acid-induced enhancement of cGMP in cerebellar cells. *Eur J Pharmacol*. 1991; 204: 335-8.
 - 105 Wan X, Mathers D A, Puil E. Pentobarbital modulates intrinsic and GABA-receptor conductances in thalamocortical inhibition. *Neuroscience*. 2003; 121: 947-58.
 - 106 Veljaca M, Krnic Z, Brajsa K, Mildner B, Pavic-Sladojev D, Seveljevic-Jaran D, Kolega M, Erceg D, Krznaric Z. The development of PL 14736 for treatment of inflammatory bowel disease. IUPHAR-GI Section Symposium, Honolulu, Hawaii. 2002;13-15, 0-32.
 - 107 Ruenzi M, Stolte M, Veljaca M, Oreskovic K, Peterson J, Ulcerative Colitis Study Group: A multicenter, randomized, double blind, placebo-controlled phase II study of PL 14736 enema in the treatment of mild-to-moderate ulcerative colitis. *Gastroenterology* 128: A584, 2005.

- 108 Veljaca M, Pavic Sladoljev D, Mildner B, Brajsa K, Bubenik M, Stipanovic S, Tabak Slosic M, Brnic L, Khan MZI, Krznaric Z, Bischoff A, Schrodter A, van Dongen WD, van Schaik F: Safety, tolerability and pharmacokinetics of PL 14736, a novel agent for treatment of ulcerative colitis, in healthy male volunteers. *Gut* 51 (Suppl III), A309, 2003 (abstr).
- 109 Krasowski MD, Finn SE, Ye Q, Harrison NL Trichloroethanol modulation of recombinant GABAA, glycine and GABA rho 1 receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284: 934.
- 110 Cheng SC, Brunner EA. Inducing anesthesia with a GABA analog, THIP. *Anesthesiology* 1985; 63: 147-51.
- 111 Voss LJ, Young BJ, Barnards JP, Sleight J. Differential anaesthetic effects following microinjection of thiopentone and propofol into the pons of adult rats: a pilot study. *Anaesth Intensive Care* 2005; 33: 373-80.
- 112 Adachi YU, Watanabe K, Higuchi H, Satoh T. High-dose flumazenil potentiates the hypnotic activity of propofol, but not that of thiopental, in ddY mice. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45: 848-52.
- 113 Brookes ZL, Reilly CS, Brown NJ. Differential effects of propofol, ketamine, and thiopental anaesthesia on the skeletal muscle microcirculation of normotensive and hypertensive rats in vivo. *Br J Anaesth* 2004; 93: 249-56.
- 114 Moreno L, Martínez-Cuesta MA, Muedra V, Beltrán B, Esplugues J. Role of the endothelium in the relaxation induced by propofol and thiopental in isolated arteries from man. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49: 430-2.
- 115 White P F, Way W L, Trevor A J. Ketamine – its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology* 1982; 56: 119-36.
- 116 Vincent JP, Corey D, Kamenka JM. Interaction of phencyclidines with the muscarine and opiate receptors in the central nervous system. *Brain Res* 1978; 152: 176-82.
- 117 Dzoljic M, Van Duijn B. Nitrous oxide-induced enhancement of gamma-aminobutyric acidA-mediated chloride currents in acutely dissociated hippocampal neurons. *Anesthesiology*. 1998; 88: 473-80.
- 118 Ichinose F, Huang PL, Zapol WM. Effects of targeted neuronal nitric oxide synthase gene disruption and nitro-L-arginine methylester on the threshold for isoflurane anesthesia. *Anesthesiology* 1995; 83: 101-8.
- 119 Hong JT, Kim HC, Kim HS, Lee YM, Oh KW. The role of nitric oxide on glutaminergic modulation of dopaminergic activation. *Pharmacol Res* 2005; 52: 298-301.
- 120 Irifune M, Fukuda T, Nomoto M, Sato T, Kamata Y, Nishikawa T, Mietani W, Yokoyama K, Sugiyama K, Kawahara M. Effects of ketamine on dopamine metabolism during anesthesia in discrete brain regions in mice: comparison with the effects during the recovery and subanesthetic phases. *Brain Res* 1997; 763: 281- 4.

- 121 Koshikawa N, Tomiyama K, Omiya K, Kobayashi M. Ketamine anaesthesia has no effect on striatal dopamine metabolism in rats. *Brain Res* 1988; 444: 394-6.
- 122 Irifune M, Shimzu T, Nomoto M. Ketamine – induced hyperlocomotion associated with alteration of presynaptic components of dopamine neurons in the nucleus accumbens of mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1991; 40: 399-407.
- 123 Hancock PJ, Stamford JA. Stereospecific effects of ketamine on dopamine efflux and uptake in the rat nucleus accumbens. *Br J Anaesth* 1999; 82: 603-8.
- 124 Masuzawa M, Nakao S, Miyamoto E, Yamada M, Murao K, Nishi K, Shingu K. Pentobarbital inhibits ketamine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens: a microdialysis study. *Anesth Analg* 2003; 96: 148-52.
- 125 Yang PK, Weinger MB, Negus SS. Elucidation of dose-effect relationships for different opiate effects using alfentanil in the spontaneously ventilating rat. *Anesthesiology* 1992;77:153-61.
- 126 Malec D, Fidecka S, Langwiński R. Central action of narcotic analgesics. I. Catalepsy and stereotypy in rats and narcotic analgesics. *Pol J Pharmacol Pharm.* 1977;29:177-93.
- 127 Freye E, Kuschinsky K. Effects of fentanyl and droperidol on the dopamine metabolism of the rat striatum. *Pharmacology* 1976; 14: 1-7.
- 128 Malec D, Fidecka S, Langwinski R. Central action of narcotic analgesics. I Catalepsy and stereotypy in rats and narcotic analgesics. *Pol J Pharmacol Phar* 1977; 29: 177-93.
- 129 Tao R, Karnik M, Ma Z, Auerbach SB. Effect of fentanyl on 5-HT efflux involves both opioid and 5-HT_{1A} receptors. *Br J Pharmacol* 2003; 139: 1498-504.
- 130 Posner MI, Dehaene S. Attentional networks. *Trends Neurosci* 1994; 17: 75-9.
- 131 Piepponen TP, Honkanen A, Kivastik T, Zharkovsky A, Turtia A, Mikkola JA, Ahtee L Involvement of opioid mu1-receptors in opioid-induced acceleration of striatal and limbic dopaminergic transmission. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 63: 245-52.
- 132 Morris BJ, Simpson CS, Mundell S, Maceachern K, Johnston HM, Nolan AM. Dynamic changes in NADPH-diaphorase staining reflect activity of nitric oxide synthase: evidence for a dopaminergic regulation of striatal nitric oxide release. *Neuropharmacology* 1997; 36: 1589-99.
- 133 Liang LP, Kaufman S. The regulation of dopamine release from striatum slices by tetrahydrobiopterin and L-arginine-derived nitric oxide. *Brain Res* 1998; 800: 181-6.
- 134 West AR, Grace AA. Striatal nitric oxide signaling regulates the neuronal

- activity of midbrain dopamine neurons in vivo. *J Neurophysiol* 2000; 83: 1796-808.
- 135 West AR, Galloway MP. Endogenous nitric oxide facilitates striatal dopamine and glutamate efflux **in vivo**: role of ionotropic glutamate receptor-dependent mechanisms. *Neuropharmacology* 1997; 36: 1571–81.
- 136 Kiss JP, Zsilla G, Vizi ES. Inhibitory effect of nitric oxide on dopamine transporter: interneuronal communication without receptors. *Neurochem Int* 2004; 45: 485-9.
- 137 Erkent U, Iskit A B, Onur R, Ilhan M. The effect of nitric oxide on fentanyl and haloperidol-induced catalepsy in mice. *European Journal of Anaesthesiology* 2006; 23: 580-5.
- 138 Sanberg PR. Haloperidol-induced catalepsy is mediated by postsynaptic dopamine receptors. *Nature* 1980; 284: 472-3.
- 139 Narkevich VB, Mikoyan VD, Bashkatova VG. Modulating role of NO in haloperidol-induced catalepsy. *Bull Exp Biol Med* 2005; 139: 328-30
- 140 Wauquier A, Niemegeers CJ, Lal H. Differential antagonism by the anticholinergic dextimide of inhibitory effects of haloperidol and fentanyl on brain self-stimulation. *Psychopharmacologia* 1975; 41: 229–35.
- 141 Sandor NT, Brassai A, Puskas A, Lendvai B. Role of nitric oxide in modulating neurotransmitter release from rat striatum. *Brain Res Bull* 1995; 36: 483–6.
- 142 Gupta M, Balakrishnan S, Pandhi P. Role of nitric oxide in experimental models of psychosis in rats. *Method Find Exp Clin Pharmacol* 2001; 23: 497–500.
- 143 Masuda Y, Murai S, Saito H, Abe E, Fujiwara H, Kohori I, Itoh T. The enhancement of the hypomotility induced by small doses of haloperidol in the phase of dopaminergic supersensitivity in mice. *Neuropharmacology* 1991; 30: 35-40.
- 144 Adams JD Jr, Odunze IN. Biochemical mechanisms of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine toxicity. Could oxidative stress be involved in the brain? *Biochem Pharmacol*. 1991; 41: 1099-105.
- 145 Malec D. Central action of narcotic analgesics. VI. Further studies on the participation of serotonin in the action of analgesics. *Pol J Pharmacol Pharm* 1980; 32: 665-72.
- 146 Rada P, Johnson DF, Lewis MJ, Hoebel BG. In alcohol-treated rats, naloxone decreases extracellular dopamine and increases acetylcholine in the nucleus accumbens: evidence of opioid withdrawal. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 79: 599-605.
- 147 Muldoon S, Van Dyke R, Hart J. Nitric oxide and anesthetics. *Curr Opin Anaesth* 1994; 7: 87-90.
- 148 Schroeder RA, Kuo PC. Nitric oxide: Physiology and pharmacology. *Anesth*

Analg 1995; 81: 1052-9.

- 149 Johns RA, Moscicki JC, DiFazio CA. Nitric oxide synthase inhibitor dose-dependently and reversibly reduces the threshold for halothane anesthesia. A role of nitric oxide in mediating consciousness? *Anesthesiology* 1992; 77: 779-84.
- 150 Dzoljic M, De Vries R. Nitric oxide synthase inhibition reduces wakefulness. *Neuropharmacology* 1994; 33: 1505-9.
- 151 Clark IA, Rockett KA, Cowden WB. Possible central role of nitric oxide in conditions clinically similar to cerebral malaria. *Lancet* 1992; 340: 894-6.
- 152 Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron* 1992; 8: 3-11.
- 153 Fostermann U, Gorsky LD, Pollock JS, Schmidt HH, Heller M, Murad F. Regional distribution of EDRF/NO synthesizing enzyme(s) in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168: 727-32.
- 154 Pajewski TN, DiFazio CA, Moscicki JC, Johns RA. Nitric oxide synthase inhibitors, 7-nitro indazole and nitro-G-L-arginine methyl ester, dose dependently reduce threshold for isoflurane anesthesia. *Anesthesiology* 1996; 85: 1111-9.
- 155 Tonner PH, Scholz J, Lamberz L, Schlamp N, Schulte am Esch J. Inhibition of nitric oxide synthase decreases anesthetic requirements of intravenous anesthetics in *Xenopus laevis*. *Anesthesiology* 1997; 87: 1479-85.
- 156 Garthwaite J, Charles SL, Chess-Williams R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggest role as intracellular messenger in brain. *Nature* 1988; 336: 385-8.
- 157 Garthwaite J, Garthwaite G, Palmer RMJ, Moncada S. NMDA receptor activation induces nitric oxide synthesis from arginine in rat brain slices. *Eur J Pharmacol* 1989; 172: 413-6.
- 158 Blaise G, To Q, Parent M, Lagarde B, Asenjo F, Sauvé R. Does halothane interfere with the release, action, or stability of endothelium-derived relaxing factor/nitric oxide? *Anesthesiology* 1994; 80: 417-26.
- 159 Tonner PH, Scholz J, Suppé E, Schulte am Esch J. L-nitroargininemethylester (L-NAME), a nitric oxide synthase inhibitor, increases the anesthetic potency of etomidate. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1999; 34: 136-9.
- 160 Gonzales JM, Loeb AL, Reichard PS, Irvine S. Ketamine inhibits glutamate-, N-methyl-D-aspartate-, and quisqualate-stimulated cGMP production in cultured cerebral neurons. *Anesthesiology* 1995; 82: 205-13.
- 161 Durieux ME. Halothane inhibits signaling through m1 muscarinic receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Anesthesiology* 1995; 82: 174-82.
- 162 Fibiger HC, Damsma G, Day JC. Behavioral pharmacology and biochemistry of central cholinergic neurotransmission. *Adv Exp Med Biol*

- 1995; 295: 399-414.
- 163 Nakahiro M, Yeh JZ, Brunner E, Narahashi T. General anesthetics modulate GABA receptor channel complex in rat dorsal root ganglion neurons. *FASEB J* 1989; 3: 1850-4.
 - 164 Vulliemoz Y, Shen H, Virag L. Alpha-2 adrenoceptor agonists decrease cyclic guanosine 3',5'-monophosphate in the mouse brain. *Anesthesiology* 1996; 85: 544-50.
 - 165 Johns RA. Nitric oxide, cyclic guanosine monophosphate, and the anesthetic state. *Anesthesiology* 1996; 85: 457-9.
 - 166 Brecht DS, Snyder SH. Nitric oxide mediates glutamate-linked enhancement of cGMP levels in cerebellum. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86: 9030-3.
 - 167 Valtschanoff JG, Weinberg RJ, Rustioni A, Schmidt HH. Nitric oxide synthase and GABA colocalize in lamina II of spinal cord. *Neurosci Lett* 1992; 148: 6-10.
 - 168 Valtschanoff JG, Weinberg RJ, Rustioni A, Schmidt HH. Colocalization of neuronal nitric oxide synthase with GABA in rat cuneate nucleus. *J Neurocytol* 1995; 24: 237-45.
 - 169 Guevara-Guzman R, Emson PC, Kendrick KM. Modulation of in vivo striatal transmitter release by nitric oxide and cyclic GMP. *J Neurochem* 1994; 62: 807-10.
 - 170 Bradshaw DJ, Simmons MA. Gamma-aminobutyric acid receptor function is modulated by cyclic GMP. *Brain Res Bull* 1995; 37: 67-72.
 - 171 Nahrwold ML, Lust WD, Passonneau JV. Halothane-induced alterations of cyclic nucleotide concentrations in the three regions of the mouse nervous system. *Anesthesiology* 1977; 47: 423-7.
 - 172 Kant GJ, Muller TW, Lenox RH, Meyerhoff JL. In vivo effects of pentobarbital and halothane anaesthesia on levels of adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate in rat brain regions and pituitary. *Biochem Pharmacol* 1980; 29: 1891-6.
 - 173 Triner L, Vulliemoz Y, Verosky M, Alpert M. Halothane effect on cGMP and control of motor activity in mouse cerebellum. *Anesthesiology* 1981; 54: 193-8.
 - 174 Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochemical Pharmacology* 1989; 38: 1709-15.
 - 175 De Sarro G, Di Paola ED, De Sarro A, Vidal MJ. L-arginine potentiates excitatory amino acid-induced seizures elicited in the deep prepiriform cortex. *Eur J Pharmacol* 1993; 230: 151-8.
 - 176 Tonner PH, Scholz J, Suppé E, Krause T, Schulte am Esch J. Phosphodiesterase inhibition reverses the effect of L-NAME on the anesthetic action of thiopental. *Anesthesiology* 1998; 89: A179.

- 177 Ichinose F, Mi W, Miyazaki M, Onouchi T, Goto T, Morita S. Lack of correlation between the reduction of sevoflurane MAC and the cerebellar cyclic GMP concentrations in mice treated with 7-nitroindazole. *Anesthesiology* 1998; 89: 143-8.
- 178 Adachi T, Shinomura T, Nakao S, Kurata J, Murakawa M, Shichino T, Seo N, Mori K. Chronic treatment with nitric oxide synthase (NOS) inhibitor profoundly reduces cerebellar NOS activity and cyclic guanosine monophosphate but does not modify minimum alveolar concentration. *Anesth Analg* 1995; 81: 862-5.
- 179 Johns RA. Nitric oxide and minimum alveolar concentration. TKO or knockout? *Anesthesiology* 1995; 83: 6-7.
- 180 Baars B J. The global brainweb: An update on global workspace theory. Guest editorial, *Science and Consciousness Review*, 2003.
- 181 Ott SR, Burrows M. Nitric oxide synthase in the thoracic ganglia of the locust: Distribution in the neuropiles and morphology of neurons. *J Comp Neurol* 1998; 395: 217-30.
- 182 Ott SR, Burrows M, Elphick MR. The neuroanatomy of nitric oxide/cyclic GMP signaling in the locust: functional implications for sensory systems. *American Zoologist* 2001; 41: 321-31.
- 183 Ott RS, Jones IW, Burrows M, Elphick MR. Sensory afferents and motor neurons as targets for nitric oxide in the locust. *J Comp Neurol* 2000; 422-521.
- 184 Vincent SR, Kimura H. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience* 1992; 46: 755-84.
- 185 Fuentes-Santamaria V, Alvarado JC, Stein BE, McHaffie JG. Cortex Contacts both Output Neurons and Nitroergic Interneurons in the Superior Colliculus: Direct and Indirect Routes for Multisensory Integration. *Cereb Cortex*. 2008; 18: 1640-52.
- 186 Wallis DI. 5-HT receptors involved in initiation or modulation of motor patterns: opportunities for drug development. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15: 288-92.
- 187 Larkman PM, Kelly JS. Ionic mechanisms mediating 5-hydroxytryptamine- and noradrenaline-evoked depolarization of adult rat facial motoneurons. *J Physiol* 1992; 456: 473-90.
- 188 Talley EM, Bayliss DA. Postnatal development of 5-HT(1A) receptor expression in rat somatic motoneurons. *Brain Res Dev Brain Res* 2000 ; 122: 1-10.
- 189 Reikling JC, Funk GD, Bayliss DA, Dong XW, Feldman JL. Synaptic control of motoneuronal excitability. *Physiol Rev* 2000; 80:767-852.
- 190 Wichmann T, DeLong MR. Functional and pathophysiological models of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* 1996; 6: 751-8.

- 191 Onn SP, West AR, Grace AA. Dopamine regulation of neuronal and network interactions within the striatum. *Trends Neurosci* 2000; 23: 48-56.
- 192 Hidaka S, Totterdell S. Ultrastructural features of the nitric oxide synthase-containing interneurons in the nucleus accumbens and their relationship with tyrosine hydroxylase containing terminals. *J Comp Neurol* 2001; 431: 139-54.
- 193 West AR, Grace AA Opposite influences of endogenous dopamine D1 and D2 receptor activation on activity states and electrophysiological properties of striatal neurons: studies combining in vivo intracellular recordings and reverse microdialysis. *J Neurosci* 2002; 22: 294-304.
- 194 Calabresi P, Gubellini P, Centonze D, Sancesario G, Morello M, Giorgi M, Pisani A, Bernardi G. A critical role of the nitric oxide/cGMP pathway in corticostriatal long-term depression. *J Neurosci* 1999; 19: 2489-99.
- 195 Calabresi P, Centonze D, Gubellini P, Marfia GA, Bernardi G. Glutamate-triggered events inducing corticostriatal long-term depression. *J Neurosci* 1999; 19: 6102-10.
- 196 Calabresi P, Gubellini P, Centonze D, Picconi B, Bernardi G, Chergui K, Svenningsson P, Fienberg A, Greengard P. Dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein 32 kDa controls both striatal long-term depression and long-term potentiation, opposing forms of synaptic plasticity. *J Neurosci* 2000; 20: 8443-51.
- 197 Di Giovanni G, Ferraro G, Sardo P, Galati S, Esposito E, La Grutta V. Nitric oxide modulates striatal neuronal activity via soluble guanylyl cyclase: an in vivo microiontophoretic study in rats. *Synapse* 2003; 48: 100-7.
- 198 West AR, Grace AA. The nitric oxide-guanylyl cyclase signaling pathway modulates membrane activity states and electrophysiological properties of striatal medium spiny neurons recorded in vivo. *J Neurosci* 2004; 24: 1924-35.
- 199 Sancesario G, Morello M, Reiner A, Giacomini P, Massa R, Schoen S, Bernardi G. Nitrergic neurons make synapses on dual-input dendritic spines of neurons in the cerebral cortex and the striatum of the rat: implications for a postsynaptic action of nitric oxide. *Neuroscience* 2000; 99: 627-42.
- 200 Gomez-Urquijo SM, Hokfelt T, Ubink R, Lubec G, Herrera-Marschitz M. Neurocircuitries of the basal ganglia studied in organotypic cultures: focus on tyrosine hydroxylase, nitric oxide synthase, and neuropeptide immunocytochemistry. *Neuroscience* 1999; 94: 1133-51.
- 201 Ariano MA. Distribution of the components of the guanosine 3',5'-phosphate system in rat caudate-putamen. *Neuroscience* 1983; 10: 707-23.
- 202 Greengard P, Allen PB, Nairn AC. Beyond the dopamine receptor: the DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade. *Neuron* 1999; 23: 435-47.
- 203 Tsou K, Snyder G, Greengard P. Nitric oxide/cGMP pathway stimulates phosphorylation of DARPP-32, a dopamine and cAMP-regulated

- phosphoprotein in the substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3462-5.
- 204 Sammut S, Dec A, Mitchell D, Linardakis J, Ortiguela M, West AR. Phasic dopaminergic transmission increases NO efflux in the rat dorsal striatum via a neuronal NOS and a dopamine D(1/5) receptor-dependent mechanism. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31: 493-505.
- 205 Walaas S I, Girault J A, Greengard, P. Localization of cyclic GMP-dependent protein kinase in rat basal ganglia neurons. *J Mol Neurosci* 1989; 1: 243-50.
- 206 Grace A A, Bunney B S. Paradoxical GABA excitation of nigral dopaminergic cells: indirect mediation through reticulata inhibitory neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 1979; 59: 211-8.
- 207 Grace A A, Bunney B S. Opposing effects of striatonigral feedback pathways on midbrain dopamine cell activity. *Brain Res.* 1985; 333: 271-84.

10. ŽIVOTOPIS

Dr. Mladen Zemba

Liječnik specijalist anesteziologije i reanimatologije

1949. Rođen u Doboju 15. rujna 1949.
1956. – 1964. Osnovna škola u Banja Luci i Tuzli.
1964. – 1968. Gimnazija u Tuzli i Sarajevu.
1968. – 1973. Studij medicine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Sarajevu.
Diplomirao 7. studenog 1973. na Medicinskom fakultetu
Univerziteta u Sarajevu.
1973. – 1974. Liječnički staž u Medicinskom centru u Derventi.
Položio stručni ispit.
1974. – 1975. Služenje vojne obveze u SOS-u i kardiološkom odjelu VMA u
Beogradu.
1975. – 1980. Zaposlen u praksi kao liječnik opće medicine.
1980. – 1984. Specijalizacija iz anesteziologije i reanimatologije.
Zaposlen u Medicinskom centru "Dr. Josip Benčević" u
Slavonskom Brodu.
1985. Položio specijalistički ispit iz anesteziologije i reanimatologije.
1987. Poslijediplomski studij iz kliničke farmakologije na Medicinskom
fakultetu u Zagrebu.
1990. – 1995. Tijekom Domovinskog rata radio u Općoj bolnici "Dr. Josip
Benčević" u Slavonskom Brodu. Pripadnik 108. brigade ZNG, i
vojne postrojbe 3 gardijske brigade. Nagrađen Zahvalnicom i
Spomenicom Domovinskog rata.
1996. Organiziranje rada ambulante za liječenje boli u Općoj bolnici "Dr.
Josip Benčević" u Slavonskom Brodu.
1997. Magistrirao na Medicinskom fakultetu u Zagrebu. Tema: Liječenje
postoperativne boli na odjelima za anesteziju.

2001. Zaposlen u Općoj bolnici “ Sv. Duh” u Zagrebu.
2001. Objavio knjigu: Liječenje poslijeoperacijske boli.
2005. Objavio poglavlja u knjizi Klinička anestezilogija:
- Opioidni analgetici
 - Anestezija za otorinolaringološke kirurške postupke
 - Liječenje poslijeoperacijske boli
2006. Zaposlen u Klinici za bolesti uha, grla i nosa Šalata u Zagrebu.
2007. Objavio poglavlje u knjizi Intenzivna medicina:
- Praćenje neuromišićne funkcije u JIL-u.